

gypt. Tracht
(Lung)

17 DEC 1923

Beiträge

zur

Kenntnis der Fungi imperfecti

Studien über drei neue Oospora-Arten
und eine neue Varietät von Oospora (Oidium) lactis

Mit 1 Tafel und 10 Figuren im Text



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophischen Fakultät II

der

Universität Zürich

von

Wassily Bobilioff-Preißer

aus Unter-Engstringen (Kanton Zürich)

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. A. Ernst

Jena
Gustav Fischer
1916

Beiträge

zur

Kenntnis der Fungi imperfecti

Studien über drei neue Oospora-Arten
und eine neue Varietät von Oospora (Oidium) lactis

Mit 1 Tafel und 10 Figuren im Text



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophischen Fakultät II

der

Universität Zürich

von

Wassily Bobilioff-Preißer

aus Unter-Engstringen (Kanton Zürich)

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. A. Ernst

Jena
Gustav Fischer
1916

17 DEC. 1923

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	1
I. <i>Oospora liquefaciens</i> , <i>Oospora cycloidea</i> , <i>Oospora radiata</i>	2
A. Morphologie	2
a) Zellgröße und Zellinhalt	2
b) Entwicklung der Organismen	3
c) Verhalten der Organismen in den verschiedenen Nährlösungen	7
1. Gehopfte, dunkle Bierwürze	8
2. Hefewasser	9
3. Hefewasser mit verschiedenen Zuckerarten.	9
4. Künstliche Lösung mit Asparagin	10
5. Künstliche Lösung mit Pepton	10
6. Künstliche Lösung mit Ammoniumsulfat	10
7. Vollmilch	10
d) Verhalten der Organismen auf festen Substraten	11
a) Plattenkulturen	11
1. Würzgelatine	11
2. Hefewassergelatine	12
3. Molkegelatine	12
4. u. 5. Künstliche Nährböden mit Asparagin- und Peptongelatine	13
6. Künstlicher Nährboden mit Ammoniumsulfatgelatine.	13
7. Künstlicher Nährboden mit Asparagin und Dextrose und 1,5 % Agar	13
β) Riesenkolonien	13
B. Physiologie	15
a) Enzymbildung	15
b) Verhalten der Organismen gegen organische Säuren	16
c) Bildung von Säuren aus Zuckerarten und event. Verbrauch der gebildeten Säuren	17
d) Bildung der Säuren aus Milch und Verbrauch der gebildeten Säuren	18
e) Verhalten der Organismen gegen verschiedene Temperaturen	19
f) N-Assimilation.	20
1. Assimilation der atmosphärischen N	20
2. Assimilation des N aus verschiedenen N-Quellen	20
3. Beeinflussung der N-Assimilation durch verschiedene Zuckerarten	21
g) Verhältnis der Organismen zum Äthylalkohol.	22
1. Verhalten der Organismen gegen verschiedene Zusätze von Alkohol	22
2. Alkoholbildung aus Zuckerarten und event. Verbrauch des gebildeten Alkohols	23
C. Systematische Stellung der Organismen	25
D. Charakteristika der einzelnen Arten	26
II. <i>Oospora (Oidium) lactis</i> var. <i>craterica</i>	28
A. Morphologie	28
a) Zellgröße und Zellinhalt	28
b) Entwicklung	29
c) Verhalten in verschiedenen Kulturlösungen	30
d) Verhalten auf festen Nährböden	31
a) Plattenkulturen	31
β) Riesenkolonien	32
B. Physiologie	33
C. Systematisches	35
D. Charakteristik	36
Literaturübersicht.	37

Einleitung.

Zu den Pilzen, deren Entwicklung nicht vollständig bekannt ist, den sogenannten *Fungi imperfecti*, gehören zahlreiche Sproßpilze ohne Sporenbildung. Trotz einer Anzahl von Arbeiten über diese Gruppe, hauptsächlich von Will und seiner Schule, welche die Gattung *Torula* (1, 2, 3, 4, 5) und die Gattung *Mycoderma* (6) behandelt haben, und einer Arbeit von Geiger (7), welcher die Gattung *Pseudomonilia* abgegrenzt hat, ist eine Anzahl von Sproßpilzen bekannt, über die bis jetzt weder eine zusammenfassende Bearbeitung erschienen, noch überhaupt eine Erwähnung in der Literatur zu finden ist. Infolgedessen ist das System der Sproßpilze bis jetzt noch unvollkommen. Diese Unvollkommenheit wird noch dadurch gesteigert, daß die technischen Mykologen bei ihren systematischen Arbeiten auf die in neuerer Zeit von Lindau und anderen begründete botanische Systematik noch wenig oder gar nicht eingehen. Um die vorhandene Verwirrung nicht noch mehr zu steigern, sollen daher die im folgenden zu beschreibenden neuen Pilze vom Standpunkte der rein botanisch wissenschaftlichen Systematik aus behandelt werden.

Die Sproßpilze ohne Sporenbildung, denen die Fähigkeit zukommt, in gewissen Entwicklungsstadien Mycelien zu bilden, werden vielfach als „Mycelhefen“ bezeichnet. Schon deshalb, weil diese Pilze selten Gärung erzeugen, also nicht zu den Hefen im engeren Sinne gerechnet werden können (8), ist diese Bezeichnung zu verwerfen. Zu diesen sogenannten Mycelhefen rechnet man in erster Linie *Monilia*, *Chalara*, Geigers *Pseudomonilia* und andere mehr. Auch eine ganze Anzahl noch vollständig unbekannter mycelbildender Sproßpilze, die man bei technischen Betriebskontrollen, speziell der Brauereien, auf den Petrischalen antrifft, gehört hierher. Von solchen Platten habe ich zahlreiche mycelbildende Sproßpilze isoliert, und nach Herstellung von Reinzuchten nach dem Lindnerschen Tröpfchen-Kulturverfahren diejenigen ausgesucht, die, trotz der Verschiedenheit im äußeren Aussehen der Kolonien auf der Petrischale, morphologisch einander nahe zu stehen schienen. Ihre Bearbeitung wurde vorgenommen, weil sie anscheinend systematisch einen Übergang zwischen *Oospora* (*Oidium*) *lactis* und *Monilia*arten darstellten. Die zur systematischen Klärstellung notwendigen allgemeinen Studien haben auch zu einer bis jetzt noch nicht bekannten Varietät von *Oospora* (*Oidium*) *lactis* geführt.

Die Untersuchung wurde in der Weise vorgenommen, daß zuerst Morphologie, Entwicklung und Physiologie der mycelbildenden Sproßpilze behandelt,

und dann die entsprechenden Untersuchungen mit der neu aufgefundenen Varietät von *Oospora* (*Oidium*) *lactis* ausgeführt wurden. Am Schluß der Arbeit wird der Versuch gemacht, die beschriebenen Organismen in das System der Sproßpilze einzuordnen.

I. *Oospora liquefaciens*, *Oospora cycloidea*, *Oospora radiata*.

A. Morphologie.

Schon aus dem Namen „Sproßpilze“ läßt sich schließen, daß für diese Organismengruppe die sprossende Zelle, deren Form und Größe sehr variabel sein kann, charakteristisch ist.

Die Sproßzelle, die entsteht, wenn man irgendeine zur Sprossung befähigte Zelle in frische Nährlösung übertragen hat, ist bei den zu beschreibenden Organismen in Form und Größe konstant. Ich möchte sie als „primäre Konidie“ bezeichnen. Sie hat ihrerseits wieder die Fähigkeit, zu sprossen und ähnliche Konidien zu bilden, welche entweder in einem Verband bleiben, oder von der Mutterzelle abgeschleudert werden. Die Sproßintensität der primären Konidien ist bei den einen Organismen stärker, bei den anderen schwächer. Sie sind länglich, mit homogenem, stark lichtbrechenden in der ersten Zeit vakuolenlosen Inhalt. Nachdem zahlreiche primäre Konidien entstanden sind, keimen einzelne von ihnen zu Hyphen aus, deren Breite beinahe derjenigen von primären Konidien gleichkommt. Die Hyphen sind verzweigt, besitzen echte Querwände, deren Zahl ständig zunimmt, und durch die sie in kurzzyklindrische Zellen — Oidien — zerfallen; dabei werden die Hyphen vor dem Zerfall in Oidien stets schmaler. Die Oidien ihrerseits haben die Fähigkeit an den Enden, oder seitlich, aber dann nur ganz nahe dem Ende, zu sprossen, und zwar mit runden, *torula* ähnlichen Zellen, die als „sekundäre Konidien“ zu bezeichnen wären. Wenn man Oidien oder sekundäre Konidien in neue Nährlösung überträgt, haben sie die Fähigkeit wieder primäre Konidien durch Sprossung zu bilden. Abgesehen von kleinen Abweichungen, die bei der ausführlicheren Besprechung der Organismen erwähnt werden, ist damit der Entwicklungskreis geschlossen.

Diese Organismen sind also durch folgende Charakteristika ausgezeichnet: Große, längliche, primäre Konidien; dicke, echtgeteilte, verzweigte Hyphen; verschieden große und verschieden lange Oidien; kleine, runde, *torula* ähnliche sekundäre Konidien.

Die Organismen werden vorläufig der Einfachheit halber als No. 2, No. 3, No. 5 bezeichnet.

a) Zellgröße und Zellinhalt.

Bei jungen, in Sprossung und Keimung begriffenen Zellen ist der Inhalt stark lichtbrechend und vollkommen homogen; erst im Laufe der Entwicklung treten stark lichtbrechende Körperchen — Granula — hervor. Im allgemeinen sind nur spärlich Granula vorhanden; ihre Bildung geht parallel mit der Bildung der Vakuolen, an deren Enden sie als 2 bis mehrere, stark lichtbrechende Körperchen angelagert sind. Die tanzenden Körperchen in den Vakuolen, die besonders stark bei *Monilia* arten hervortreten, und die nach Guilliermond (9) mit den metachromatischen Körnern identisch wären, sind nie beobachtet worden. In älteren Kulturen trifft man

oft fettartige Einschlüsse, die von Will als Ölkörperchen bezeichnet werden; in den kleinen Oidien von No. 3, No. 5 sind sie beinahe immer vertreten; sie sind hier in beiden Enden der Oidien als ein oder wenige runde Körperchen vorhanden; am häufigsten trifft man sie aber in Kulturen, in denen degenerative Zellformen vorkommen, oder in solchen, bei denen abnorme Ernährungsbedingungen herrschen, z. B. wenn die organische N-Quelle durch eine anorganische ersetzt wurde. Junge Oidien und Hyphen vor dem Zerfall besitzen auch homogenen Inhalt, die älteren dagegen sind mit wenigen Granulis versehen. Wenn eine Hyphe aus irgendeinem Grunde nicht in Oidien zerfällt, bekommt sie fast stets große Vakuolen, und man hat den Eindruck, daß Degeneration vorliegt. Die Ölkörperchen zeigen deutliche Fettreaktion; mit Osmiumsäure werden sie zuerst braun, dann schwärzen sie sich; mit Alkannatinktur geben sie rote Färbung. Die Glykogenreaktion mit Jodkalium dagegen (10) ist bei allen negativ ausgefallen.

No. 2. Aus der jungen Kultur entnommene primäre Konidien sind ziemlich lang, 6—8,6 μ , und 3,66 μ breit; dagegen sind die von Plattenkulturen stammenden, runden sekundären Konidien, welche mit primären Konidien vermischt sind, von der Größe 4,88—6,56 μ . Derselben Platte entnommene Oidien waren 2,5—4,7 μ breit und 8,84—14,64 μ lang.

No. 3. Die primären Konidien sind etwas länger als bei No. 2; sie sind 6,7—10,55 μ lang und 3,6—4,2 μ breit. Nach 7 Tagen findet man auch runde sekundäre Konidien, die etwas abgeplattet sind; ihre Länge beträgt 4,2 μ , ihre Breite 2,79—4,2 μ . Die Oidien sind 2,5—4,7 μ breit, 4,2—10,5 μ lang.

No. 5. Die jungen primären Konidien sind 3,6 μ breit und 6,6—10,5 μ lang. Von der Platte stammende Oidien sind in der Breite konstant, 2,44—2,68 μ ; in der Länge variabel, 2,5—10,98 μ . Auf älteren Platten herrschen kleine Formen vor. In älteren Kulturen trifft man Zellen von auffallender Größe, wie sie bei Saccharomyceten und anderen Sproßpilzen auch auftreten und als Riesenzellen bezeichnet werden. Bei No. 5 sind diese Riesenzellen oft schon auf der Platte in Sprossung begriffen. Die Mutterzelle besitzt eine oder 2 Vakuolen; ihre Membran ist stark verdickt (Fig. 1).



Fig. 1.
Riesenzellen
des Organismus
No. 5.

Die Riesenzellen sind rund und haben einen Durchmesser von 12,2—17,1 μ . Die Oidien von No. 5 sind dadurch ausgezeichnet, daß sie an beiden Enden etwas gebogen sind und stets an je einem Ende ein Ölkörperchen tragen.

b) Entwicklung der Organismen.

Die Entwicklung wurde verfolgt in Tröpfchenkulturen, und zwar mit Würze als Nährlösung. Dabei zeigten die Organismen No. 3 und No. 5 keine besonders hervorstechenden Unterschiede. Da die durch Sprossung entstandenen Kolonien, welche aus großen Haufen primärer Konidien bestehen, nach allen Richtungen des Raumes sich entwickeln, war das Verfolgen der weiteren Entwicklung mit einigen Schwierigkeiten verbunden, weil in dem entstandenen Wirrwarr eine Orientierung kaum mehr möglich war. Diese Erscheinung tritt übrigens fast bei allen Sproßpilzen, mit wenigen Ausnahmen auf. Wenn sich daher auch hier die lückenlose Entwicklung nur bei Beginn der Sprossung und später in ihrem Verlaufe am Rande der Kolonie, wo die Zellen nur in einer oder wenigen Schichten gelagert sind, verfolgen läßt, so wird doch dadurch die Sicherheit der Diagnostik in keiner Weise beeinträchtigt. Sehr gut läßt sich hier auch die Entwicklung der Hyphen, die weit über den Rand der Kolonie hinaus sich erstrecken, studieren.

No. 2. Die Entwicklung im Tröpfchen ist sehr einfach; meist entsteht nur eine gewöhnliche Sproßkolonie. Infolgedessen kann die Kolonie mit anderen Sproßpilzen,

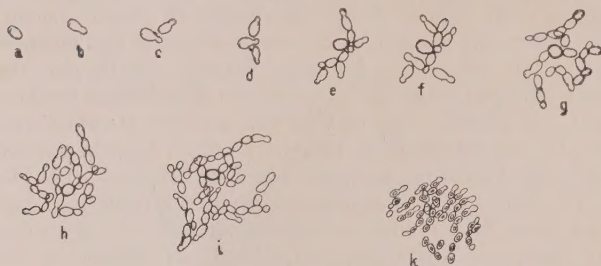


Fig. 2. Entwicklung von No. 2 im hängenden Tröpfchen in Würze. a Ausgangszelle, primäre Konidie, b—i aufeinanderfolgende Stadien der jungen Kolonie, k Rand der 36 Stunden alten Kolonie.

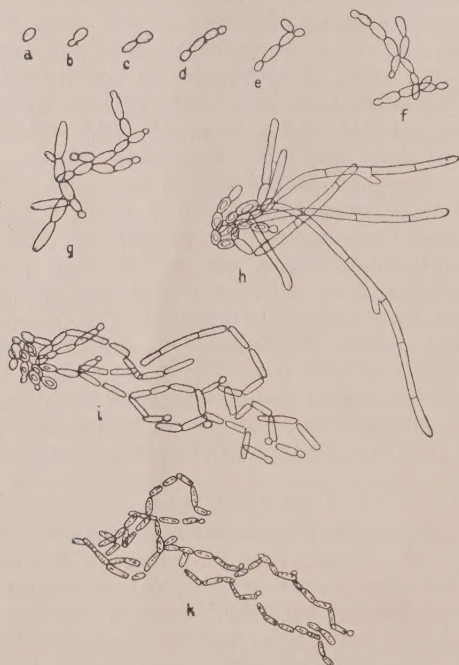


Fig. 3. Entwicklung von No. 3 im hängenden Tröpfchen in Würze. a Ausgangszelle, primäre Konidie, b—g aufeinanderfolgende Stadien der jungen Kolonie, h Rand der jungen Kolonie mit Hyphen, i Rand der 2 Tage alten Kolonie, in Oidien zerfallene Hyphen, k Rand der 3 Tage alten Kolonie.

No. 3. Die erste Sprossung erfolgt in gewöhnlicher Weise; die gebildeten Zellen bleiben hier aber im Verband, manchmal strecken sie sich etwas in

anderen Sproßpilzen, z. B. *Saccharomyces*, verwechselt werden. Von der kräftigen, primären Konidie ausgehend (Fig. 2 a), erzielt man die erste Sprossung schon 4 Stunden nach der Aussaat; die neu entstandene Konidie ist der Mutterkonidie völlig gleich; sie wird von ihr ab-

geworfen, bildet mit ihr keinen Sproßverband, und ist befähigt, selbst sofort zu sprossen. Durch fortgesetzte Sprossung entsteht eine Kolonie, die nach 2 Tagen den ganzen Raum des Tröpfchens einnimmt. Nach 24 Stunden ist die Kolonie schon so groß, das sie mit bloßem Auge im Tröpfchen erkennbar ist. Die Konidien späterer Sprossung sind entschieden kleiner als die zuerst entstandenen, die auch in den älteren Tröpfchen ihre Größe merklich verändern, indem sie kleiner werden als die primären Konidien, von denen man ausgegangen ist (Fig. 2 k.). Schon nach 36 Stunden bekommen die Konidien je eine Vakuole. Selten gelingt es, in dem Tröpfchen die Bildung der Hyphen zu beobachten, und wenn, dann sind sie vereinzelt, kurz, nicht über den Rand der Kolonie hinauswachsend; in dem Falle zerfallen sie leicht in Oidien, die lebhaft sprossen und sekundäre Konidien erzeugen.

die Länge und sprossen an den Enden oder seitlich. Schon nach 24 Stunden ist die erste Anlage der Hyphen bemerkbar; sie erfolgt in der Weise, daß die außen liegenden Konidien an den Enden sich verlängern; (Fig. 3 g.). Nach 36 Stunden sind die Hyphen schon stark gewachsen, geteilt, und beginnen seitliche Verzweigungen zu bilden (Fig. 3 h.). Die Zahl der primären Konidien ist während des Auswachsens der Hyphen noch gering, vergrößert sich aber beständig durch Sprossen am Rande liegender Konidien, die nicht zu Hyphen ausgewachsen sind. Die jetzt entstandenen Konidien treten nicht in den Verband ein, sondern werden abgeschleudert und liegen dann frei neben den Hyphen. Nach 48 Stunden erfolgt der Zerfall der Hyphen in Oidien; die zuerst entstandenen sind ziemlich lang und bilden meist durch Sprossung eine geringe Zahl von sekundären Konidien an den Enden (Fig. 3 i.). Die Oidien zerfallen beständig; dieser Zerfall geht Hand in Hand mit einem Schmälerwerden der Oidien. Nach 3 Tagen findet man an Stelle der Hyphen kleine, mit etwas Granulis und Öltröpfchen versehene Oidien, welche hie und da sekundäre Konidien aufweisen (Fig. 3 k.).

No. 5. Wenn man hier von einer primären Konidie ausgeht, so ist ein Unterschied in der Entwicklung gegenüber No. 3 kaum bemerkbar; die Zahl der primären Konidien bei ihrem Auswachsen zu Hyphen ist oft noch geringer als bei No. 3, die Zahl der gebildeten Hyphen dagegen ist meist bedeutend größer. Im vorliegenden Falle wurde daher von einem geteilten, breiten, kurz vor der Oidienbildung stehenden Hyphenstück ausgegangen (Fig. 4 a.). Dieses hat sich zuerst verlängert, dann seitlich eine ziemlich lange Zelle abgesproßt, und ist nachher in lebhafte Sprossung übergegangen. Die so entstandenen primären Konidien blieben im Verband. Die Hyphen waren wie bei No. 3 lang, verzweigt, geteilt und sind auch vor dem Zerfall in Oidien bedeutend schmäler geworden. Auch die primären Konidien haben sich verkleinert. Die durch Zerfall der Hyphen entstandenen Oidien sprossen äußerst selten. Die Hyphen zerfallen oft nicht vollständig in Oidien, sondern ihre Enden erhalten eine große Vakuole und scheinen dann in Degeneration überzugehen (Fig. 4 l.).



Fig. 4. Entwicklung von No. 5 [im hängenden Tröpfchen in Würze. a Ausgangszelle, geteiltes Hyphenstück, b—h aufeinanderfolgende Stadien der jungen Kolonie, i Rand der 36 Stunden alten Kolonie, k Rand der 48 Stunden alten Kolonie, l Rand der 3 Tage alten Kolonie.

Charakteristischere Unterscheidungsmerkmale als die Entwicklung

im hängenden Tröpfchen, liefert die Beobachtung der Entstehung von Kolonien auf festem Substrat, von einer einzigen Zelle ausgehend. Auch diese wurde auf einem, in dünner Schicht auf das Deckglas einer feuchten Kammer aufgetragenen festen Nährboden verfolgt. Dabei spielt nicht nur die verschiedene Zusammensetzung, sondern hauptsächlich auch die verschiedene Konsistenz des Nährbodens eine Rolle. Deshalb sind 2 verschiedene feste Nährböden gebraucht worden: Gelatine und Agar; der erstere als Bierwürzelgelatine (10 Proz. Gelatine), der zweite als künstlich zusammengesetzter Nährboden, bestehend aus 50 g Dextrose, 2,5 g Asparagin, 20 cem H a y - d u c k s c h e Minerallösung, 1000 cm³ Wasser. Diese Lösung wurde mit 1,5 Proz. Agar versetzt.

No. 2. Einzellkultur auf Würzelgelatine. Die Zellen sprossen beständig; die entstandenen Zellen bilden keinen Verband. Durch diese Sprossung entsteht eine Kolonie, die nur aus primären Konidien zusammengesetzt ist. Erst später bilden sich Hyphen, und zwar in geringer Zahl; sie wachsen aus dem Rande der Kolonie hinaus und zerfallen leicht in Oidien, denen ungeheure Sproßfähigkeit zukommt. Dadurch werden die Oidien von den durch Sprossung gebildeten Konidien vollständig überdeckt. Nach 3 Tagen erfolgt die Verflüssigung der aufgetragenen Gelatine. Wenn auf einem Deckglas mehrere Kolonien gewachsen sind, erfolgt die Verflüssigung

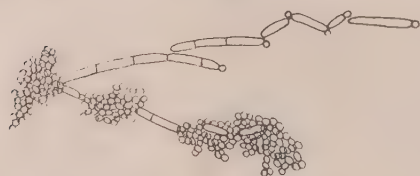


Fig. 5. Rand der jungen Kolonie von No. 2 in Einzellkultur auf Agar.

viel intensiver, und der aufgetragene Nährboden wird auf dem ganzen Deckglas völlig dünnflüssig. Da die Zellen einer Kolonie in keinem Verstande stehen, zerfallen sie leicht; so ist bald das ganze Deckglas unregelmäßig mit Konidien erfüllt, und hie und da bemerkt man dazwischen einzelne Oidien, die frei in dem verflüssigten Nährboden herumschwimmen.

No. 2. Einzellkultur auf Agar. Es entsteht, wie gewöhnlich, eine Kolonie, bestehend aus primären Konidien, die hier nicht zerfallen. Schon nach 36 Stunden, von der ersten Sprossung an gerechnet, während die Kolonie noch ziemlich klein ist, werden Hyphen gebildet. Die Zahl der gebildeten Hyphen ist sehr gering; manche Kolonien besitzen nur 3—5. Die Hyphen erhalten Querwände, und können, auch ohne zuerst in Oidien zu zerfallen, sprossen. An den Oidien, deren Enden ganz frei liegen, ist die Sprossung viel lebhafter als an den Hyphen; sie ist zuerst langsam, dann schneller, und die Oidien werden besonders an den Enden vollständig verdeckt, in dem sich Haufen von Konidien darauf lagern. In manchen Hyphen beobachtet man auch eine Kontraktion des Inhaltes zugunsten der neugebildeten Oidien, und sie erscheinen dann schwach lichtbrechend und vollständig leer (Fig. 5).

No. 3. Einzellkultur auf Würzelgelatine. Die Sprossung der primären Konidien ist zuerst stark verzögert; nachdem sie ein paarmal gesproßt haben, wachsen die entstandenen Konidien in kurze Hyphen aus, die oft, ohne Querwände zu erhalten, an den Enden sprossen. Außerdem werden auch lange Hyphen ausgetrieben, die in Oidien zerfallen, welche meist nur an den Enden Sproßfähigkeit besitzen. Es wird auch hier die Gelatine verflüssigt, nach etwa 4 Tagen. Auch hier fällt die Kolonie auseinander.

Dann beobachtet man unter dem Mikroskop meist Oidien und auch Hyphen, und es macht den Eindruck, daß die letzteren ihren Inhalt durch Kontraktion den gebildeten Oidien abgegeben haben.

No. 3. Einzellkultur auf Agar. Die sprossenden Zellen bilden nur wenige Konidien; diese wachsen bald in geteilte, verzweigte, weit sich erstreckende Hyphen aus; dadurch wird die Kolonie groß und breitet sich nach allen Seiten aus. Nur in der Mitte liegen ein paar primäre Konidien. Die Hyphen sprossen an den Querwänden, oder zerfallen in Oidien, und diese letzteren sprossen auch an den Spitzen lebhaft. Die gebildeten Oidien sind kurz und von regelmäßiger Form (Fig. 6).

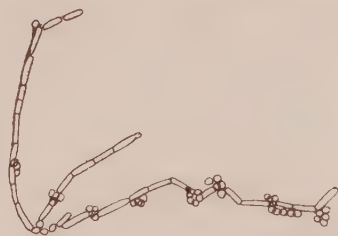


Fig. 6. Rand der jungen Kolonie von No. 3 in Einzellkultur auf Agar.

No. 5. Einzellkultur auf Würzegelatine. Die Entwicklung ist dadurch ausgezeichnet, daß die primären Konidien, nachdem sie wenige Male gesproßt haben, einen kleinen Verband bilden. Einzelne von ihnen, und zwar solche, die zwischen 2 Konidien liegen, werden länger und sprossen seitlich wieder mit primären Konidien. Dadurch, daß die einzelnen Konidien auf diese Weise ihre Gestalt verändern, und zwar meist in derselben Richtung, erhält die junge Kolonie ein längliches Aussehen. Aber später wird die Kolonie, infolge nachträglicher Sprossung, nach und nach abgerundet. Dann wird ein gewöhnliches Mycel gebildet, das in Oidien zerfällt; bei diesen kommt die Reduktion der Sproßfähigkeit in bezug auf sekundäre Konidien stark zum Ausdruck.

No. 5. Einzellkultur auf Agar. Nach der gewöhnlich kurz anhaltenden Sprossung werden geteilte Hyphen gebildet; sie bekommen Querwände, an denen, wie gewöhnlich, der Zerfall in Oidien vor sich geht. Die Oidien zerfallen nicht, sondern halten zusammen; infolgedessen haben sie die gleiche Anordnung wie die Hyphen, aus denen sie hervorgegangen sind. Sie sind aber, zum Unterschied von den anderen, etwas unregelmäßig gekrümmt oder ganz wenig angeschwollen. Die Oidien sprossen gewöhnlich an den Enden, manchmal auch seitlich (Fig. 7). Im allgemeinen ist die Entwicklung auf Agar dadurch gekennzeichnet, daß, in Folge der festeren Konsistenz des Nährbodens, der Zerfall in Oidien nicht vor sich gehen kann, oder daß die gebildeten Oidien den benachbarten anliegen und dadurch Hyphenform erhalten.



Fig. 7. Rand der jungen Kolonie von No. 5 in Einzellkultur auf Agar.

c) Verhalten der Organismen in den verschiedenen Nährlösungen.

Schon aus der Entwicklung der Einzellkulturen ist ersichtlich, daß die Organismen, je nach dem angewandten Substrat, sich verschieden verhalten. Um ein morphologisch vollständiges Bild zu erhalten, erschien es deshalb unerlässlich, die Entwicklung der Organismen einerseits in größeren Mengen der verschiedenen Nährlösungen zu verfolgen, andererseits auf festen Sub-

straten. Außer den natürlichen Nährlösungen, deren Zusammensetzung mehr oder weniger großen Schwankungen unterworfen ist, wurden künstlich hergestellte Nährlösungen von ganz bestimmter Zusammensetzung benutzt. Es kamen folgende Nährlösungen zur Anwendung: 1. Gehopfte, dunkle Bierwürze 10 Proz. Balling. 2. Hefewasser. 3. Hefewasser mit Zusatz von verschiedenen Zuckerarten: Dextrin, Dextrose, Galaktose, Laevulose, Maltose, Milchzucker, Raffinose und Saccharose. 4. Eine künstliche Lösung von der Zusammensetzung: 1000 cem dest. Wasser, 2,5 g Asparagin, 50 g Dextrose, 20 cem Haydicksche Minerallösung. 5. Eine künstliche Nährlösung wie Lösung 4, nur statt 2,5 g Asparagin 2,1 g Pepton. 6. Eine künstliche Lösung wie Lösung 4, nur statt 2,5 g Asparagin 2,5 g Ammoniumsulfat. 7. Vollmilch. Die betreffenden Lösungen wurden in kleine Erlenneyerkolben von je 10 cem abgefüllt, mit Wattestopfen verschlossen, im Dampfsterilisator sterilisiert und nach dem Einimpfen des betreffenden Organismus bei Zimmertemperatur beobachtet. Die zur Impfung benutzten Organismen stammten stets aus Kulturen, die eine Woche alt waren.

1. Gehopfte, dunkle Bierwürze 10 Proz. Balling.

No. 2. Schon nach 2 Tagen war eine glatte, weiße, nicht zusammenhängende Kahlhaut vorhanden, die am Rande des Kölbchens hinaufkroch. Die Vegetation am Rande vergrößerte sich, und nach 10 Tagen entstand ein glatter, weißer Ring. Die Kahlhaut und der Ring bestehen aus primären, sproßenden Konidien, und nur ausnahmsweise trifft man Hyphen und Oidien. Die jungen Zellen besitzen homogenen Inhalt; nach 10 Tagen dagegen erhalten sie eine Vakuole, an deren Enden sich gewöhnlich etwas Granula ansammeln.

No. 3. Hier entsteht nach 2 Tagen zuerst ein Ring am Rande der Flüssigkeit. Der Beginn der Ringbildung ist in einzelnen getrennten Partien, die der Kölbchenwand fest anliegen, zu beobachten. Diese werden dann allmählich größer und vereinigen sich zu einem kontinuierlichen Ring. Dazwischen bilden sich an der Oberfläche der Flüssigkeit einzelne, freischwimmende, wenig erhabene Inseln, die sich allmählich vergrößern, bis sie zusammenstoßen und sich schließlich mit dem Ring zu einer Kahlhaut vereinigen. Auf der Kahlhaut unterscheidet man einzelne Erhebungen. Die Kahlhaut ist gelblich und von schmierigem Aussehen. An der unteren Seite wachsen von ihr einzelne, kurze Partien in die Flüssigkeit hinein. Manchmal sinken die Inseln unter bevor die Kahlhaut gebildet wird; in diesem Falle bleibt die Oberfläche eine Zeitlang von jeder Vegetation frei, abgesehen von einem schon gebildeten Ring. Falls aus irgendwelchem Grunde, z. B. infolge von Erschütterung des Kölbchens, die schon gebildete Kahlhaut untersinkt, überzieht sich die freie Oberfläche mit einer ganz feinen, glatten, kaum erkennbaren Kahlhaut. In Proben, die von einer ganz jungen Kultur stammen, beobachtet man unter dem Mikroskop neben den gewöhnlichen sprossenden primären Konidien, einzelne Konidien, die in kurze Schläuche ausgewachsen sind, welche ihrerseits wieder an den Enden sprossen. Später, nach 8—10 Tagen, besteht die Kahlhaut aus allen Zellformen: Oidien, Konidien und Hyphen. Alle sind reichlich mit Granulis, die regelmäßig in den ganzen Zellen verteilt ist, versehen. Vakuolen sind selten zu beobachten.

No. 5. Die Entwicklung geht langsam vor sich. Entweder bildet sich zuerst ein Ring, wie bei No. 3, dann entstehen Inseln, und schließlich wird die ganze Fläche mit einer Kahlhaut überzogen. Diese erscheint etwas

dünnere als bei No. 3, und die Inseln sind in ihr ganz stark abgegrenzt. Oder es erfolgt das erste merkbare Wachstum am Boden des Kölbchens, wo einzelne Zellen zu Kolonien auswachsen, nach allen Seiten Hyphen ausbreiten, und dadurch aussehen wie feine, runde Flocken, die frei in der Flüssigkeit schweben. Diese Erscheinung tritt besonders dann deutlich auf, wenn irgendwelche hemmende Faktoren eingewirkt haben. Die unten entwickelten Kolonien schwimmen schließlich auf die Oberfläche hinauf und bilden scharf abgegrenzte Inseln, die sich vergrößern, bis sie sich zu einer Kahmhaut vereinigen. Auch hier entsteht, wenn diese erste Kahmhaut untersinkt, eine zweite, die ganz fein, glatt und weiß ist. Mikroskopisch besteht der Ring aus Hyphen; primäre Konidien sind selten zu beobachten. Die Kahmhaut mit ihren erhöhten Inseln besteht aus Konidien, Oidien und Hyphen. Die Oidien sind dadurch charakterisiert, daß sie an beiden Enden abgerundet und etwas gebogen sind; dadurch erhalten sie eine halbmondförmige Gestalt. Außerdem trifft man auch etwas unregelmäßige, sogar ein wenig angeschwollene Oidien. Diese sind an den Enden gewöhnlich mit 2 Öltröpfchen versehen; Granula kommen auch ziemlich reichlich vor; Vakuolen sind selten.

2. Verhalten im Hefewasser.

Im allgemeinen ist die Entwicklung im Hefewasser, wahrscheinlich infolge des Mangels an Kohlenhydraten, stark gehemmt, und zwar betrifft die Hemmung nicht nur die Stärke der Vegetation, sondern es tritt gewöhnlich auch ein merkliches Wachstum erst 2—3 Tage später auf, als in der Würze. Die entstehenden Kahlhäute sind auch bedeutend schwächer und strukturlos. Die Bildung des zusammenhängenden Ringes ist auch bei No. 3 und No. 5 zu konstatieren. Bei No. 5 entwickelt sich der Ring manchmal zu anscheinlicher Größe. Die Bodenvegetation ist nur schwach. Mikroskopisch: man trifft bei allen 3 Organismen vorwiegend Hyphen; bei No. 5 kommen, wahrscheinlich infolge Nahrungsmangels, auch unregelmäßige, in Degeneration begriffene Oidien und Konidien vor.

3. Verhalten im Hefewasser mit verschiedenen Zuckerarten.

Beim Zufügen von Zucker zu Hefewasser wird der Mangel an Kohlenhydraten aufgehoben, und es erfolgt, je nach dem Nährwert der betreffenden Zuckerart, ein mehr oder weniger gutes Wachstum der Organismen, welches aber doch hinter dem Wachstum in der Würze zurückbleibt. Durch Zusatz von Milchzucker und Dextrin wird die Entwicklung etwas gehemmt. Nachdem die Lösung schon etwas erschöpft war, etwa nach 8 Wochen, waren einige Besonderheiten zu konstatieren. No. 2 bildete verhältnismäßig schmale, selten geteilte Hyphen und auffallend kleine Konidien; in den Lösungen mit Dextrin, Dextrose und Maltose war dies besonders gut zu beobachten. No. 3. Die Kultur nimmt in Lösungen, die Galaktose, Raffinose und Saccharose enthalten, rötliche Farbe an, die besonders an der Oberfläche deutlich hervortritt. In Saccharose- und Raffinoselösungen schreitet die Entwicklung nicht bis zur vollständigen Kahmhautbildung vor, sondern bleibt beim Inselstadium stehen. Kulturen in Maltose enthaltenden Lösungen waren gelblich mit rötlichem Schimmer. Mikroskopisch bestehen alle Kulturen hauptsächlich aus Konidien mit je 1 oder 2 Öltröpfchen, die oft beinahe den ganzen Raum der Zelle einnehmen. Bei No. 5 ist in Lösungen, die Saccharose, Dextrin und Milchzucker enthielten, die Entwicklung nur bis zum Inselstadium

gekommen, eine Kahlhaut bildete sich nicht. Die Kulturen erscheinen gelblich in Raffinose und Galaktose enthaltenden Lösungen; bei Anwesenheit von Laevulose tritt außerdem noch ein rötlicher Schimmel auf. Überdies sind auch noch die für No. 5 charakteristischen Riesenzellen angetroffen worden, besonders oft in der Lösung mit Dextrin, seltener in der Lösung mit Milchzucker.

4. Verhalten in der künstlichen Lösung mit Asparagin.

Hier scheint die Entwicklung zuerst etwas verzögert, und zwar kommt das bei No. 5 besonders stark zum Ausdruck. Zuerst treten hier freischwimmende Kolonien im Innern der Flüssigkeit auf, und es braucht ziemlich lange Zeit, bis eine Oberflächenentwicklung zustande kommt. Diese besteht dann in einer gleichmäßigen, gefalteten, starken, die ganze Oberfläche überziehenden Kahlhaut. Bei No. 2 und No. 3 bilden sich starke, glatte Kahlhäute, die am Rande entsprechend starke, nicht zusammenhängende Ringe bilden.

5. Verhalten in der künstlichen Lösung mit Pepton.

Die Entwicklung entspricht beinahe vollständig der in der Lösung mit Asparagin. Bei No. 2 und No. 3 sind hier die Kahlhäute glatt, bei No. 5 dagegen gefaltet. Die Entwicklung ist vielleicht noch etwas mehr verzögert, als in der Lösung mit Asparagin; bei No. 5 dauerte es 5 Tage bis die erste Oberflächenvegetation sich bildete.

6. Verhalten in der künstlichen Lösung mit Ammoniumsulfat.

Wenn man den organischen N durch anorganischen ersetzt, so wird auch hier, wie bei anderen Pilzen, die Entwicklung bedeutend gehemmt. Das zeigt sich schon daran, daß hier zum erstenmal bei allen Organismen die Entwicklung zuerst im Innern erfolgt, in Form einzelner, großer Kolonien, wie es sonst nur bei No. 5 der Fall war. Am schnellsten tritt die Kahlhaut bei No. 2 auf, nämlich nach 5 Tagen; nach 6 Tagen dann bei No. 3, und nach 10 Tagen schließlich bei No. 5. Die entstandenen Kahlhäute sind hier glatt, nicht zusammenhängend, ohne irgendwelche Struktur; oft wird auch nur ein Teil der Oberfläche mit Kahlhaut überzogen. Untersucht man Proben, die aus älteren Kulturen stammen, so findet man bei No. 2 Konidien von unregelmäßiger Gestalt, an einer Stelle etwas ausgezogen, mit starker Membran, und 1 bis 2 scharf abgegrenzten Öltröpfchen. Bei No. 3 trifft man auch unregelmäßige Formen und Hyphen, welche im Begriff sind, zu zerfallen, oder schon in Oidien zerfallen sind. Bei No. 5 besteht die Kahlhaut aus Hyphen und Oidien, die letzteren sind besonders oft angeschwollen. Unregelmäßige Konidienformen mit Öltröpfchen sind dagegen selten.

7. Verhalten in der Vollmilch.

Die Entwicklung der Organismen in der Vollmilch geht rasch und gut vor sich. Über die äußere Beschaffenheit der entstandenen Kahlhäute läßt sich kaum etwas Bestimmtes behaupten, da infolge der Farbe der Milch die Beobachtung sehr erschwert ist. Die Kahlhäute sind ziemlich dick und scheinen ganz glatt zu sein. Schon nach 14 Tagen trat ein käseartiger Geruch auf, der nach 2 Monaten bei No. 3 ganz hervorragend stark war, bei No. 2 etwas schwächer, und ganz schwach bei No. 5. Ausgeschiedene

Zersetzungsprodukte der Milch lagen unten am Boden des Kolbens und waren mit Organismen durchsetzt. Mikroskopisch: auffallender Mangel an Mycel, dagegen waren hauptsächlich abgerundete, verschieden große, mit starker Membran versehene Konidien vertreten.

d) Verhalten der Organismen auf festen Substraten.

Zum Studium der Organismen auf festen Substraten wurden folgende Gelatine- und Agar-Nährböden verwendet: 1. Bierwürze mit 10 Proz. Gelatine, 2. Hefewasser mit 10 Proz. Gelatine, 3. Molke mit 10 Proz. Gelatine, 4. Künstliche Lösung: 50 g Dextrose, 2,5 g Asparagin, 20 cem Hayduck'sche Minerallösung, 10 Proz. Gelatine, 5. Künstliche Lösung wie bei 4, aber statt 2,5 g Asparagin 2,1 g Pepton und 10 Proz. Gelatine, 6. Künstliche Lösung wie bei 4, aber statt 2,5 g Asparagin 2,5 g Ammoniumsulfat, 10 Proz. Gelatine, 7. Künstliche Lösung wie bei 4, aber statt Gelatine 1,5 Proz. Agar.

a) Verhalten der Organismen auf Platten-Kulturen.

1. Verhalten auf Würzegelatine.

Bei No. 2 beginnt die Kolonie, die noch kaum sichtbar ist, schon nach 2 Tagen unterzusinken; sie hat zuerst weißliche Farbe; diese geht dann in ein Braun über, das ungefähr dem der umgebenden Würzegelatine gleich ist, aber nicht glänzt. Nach 3—4 Tagen erfolgt die Verflüssigung der die Kolonie umgebenden Gelatine; diese Verflüssigung breitet sich mit der Zeit immer weiter aus. Wenn mehrere Kolonien auf einer Platte gewachsen sind, so ist die ganze Platte nach 4 Tagen vollständig flüssig. In den ersten Tagen ist die Kolonie dadurch charakterisiert, daß die untergesunkene, mittlere Partie gar keine Struktur besitzt, nur der Rand ist mit einem weißlich aussehenden Saum umgeben; dabei ist zu bemerken, daß die Bildung des Saumes meist unterbleibt. Mikroskopisch: Neben den großen, primären Konidien mit homogenem, stark lichtbrechenden Inhalt findet man kleine, sekundäre Konidien mit schwacher Körnelung. Oidien und Hyphen sind selten (Photographie I).

No. 3. Zuerst entsteht eine kleine, weiße, runde Kolonie, die nach 4—5 Tagen sich mit einem schmierig aussehendem, hellbraunen Ring umgibt; dabei sinkt aber der mittlere, weiß aussehende Teil ein wenig ein. Die Verflüssigung tritt schon nach 5 Tagen auf, beschränkt sich aber zuerst auf eine kleine Zone der die Kolonie umgebenden und unter ihr sich befindlichen Gelatine. Die Verflüssigung kann unter Umständen scheinbar unterbleiben, wenn nämlich die ganze Gelatine, die unter der Kolonie sich befindet, zur Entwicklung der Kolonie verbraucht wird und mit Hyphen völlig durchgewachsen ist. Aus diesem Grunde ist die Verflüssigung auf Platten mit dickerer Gelatineschicht deutlicher zu konstatieren. Dadurch, daß die Kolonie aus langen Hyphen besteht, hält sie zusammen und bleibt, ohne zu zerfallen, auf der verflüssigten Gelatine liegen. Nach etwa 14 Tagen kann man an der Kolonie einen mittleren, weißen Teil unterscheiden, der deutliche Ringbildung aufweist. Die Zahl der Ringe ist nicht konstant und von der Intensität des Wachstums abhängig. Die Kolonie zeigt eine weiße Körnelung, die am Rande besonders deutlich hervortritt. Mikroskopisch besteht die mittlere, weiße Partie aus Konidien und Oidien. Die Randzone, die beim Herausnehmen etwas schmierig und zähe erscheint, besteht aus Hyphen, die beinahe vollständig in Oidien zerfallen sind (Photographie II).

No. 5. Die Kolonie ist zuerst ganz flach, in der Mitte sogar etwas vertieft; nach 5 Tagen beginnt sich eine Struktur auszubilden. Die mittlere Partie zeigt ein gekräuseltes Aussehen, das nach dem Rande zu in eine radiale Strahlung übergeht. Die einzelnen Strahlen sind verschieden lang; kurze wechseln mit langen ab. Nach 8—10 Tagen bildet sich um diese strahlenförmig aussehende Kolonie ein glatter Ring. Und um diesen breitet sich noch eine, mit bloßem Auge kaum sichtbare, mikroskopisch aber deutlich erkennbare Strahlung aus. Manchmal erhält auch der glatte Ring nach etwa 15 Tagen eine deutlich sichtbare Strahlung, die ganz genau wie die Strahlung in der mittleren Partie aussieht. Die mittlere Strahlung ist mit einem feinen, weißen, mehligem Überzug bedeckt. Die gewundene Mitte ist zuerst braun und glatt, mit der Zeit aber wird sie immer dunkler und bekommt ein ganz schmieriges Aussehen. Dadurch geht natürlich auch die charakteristische, gewundene Struktur verloren. Der glatte Ring ist zuerst bräunlich; kurz vor dem Eintreten der Strahlung wird auch er etwas mit weißem Überzug bedeckt. Die Verflüssigung tritt ziemlich spät und nicht immer im selben Zeitpunkte auf; manchmal ist die Platte schon nach 20 Tagen ganz flüssig. Mikroskopisch: Der Rand besteht aus Hyphen; die Strahlung und der mittlere gewundene Teil beinahe ausschließlich aus Oidien (Photographie III).

Die entsprechenden Strich- und Stichkulturen ergaben nichts abweichendes. Im allgemeinen haben die bei Strichkulturen entstandenen Kolonien dieselbe Form wie die der Plattenkulturen. Bei Stichkulturen war die Entwicklung auf den Eingang in den Stichkanal beschränkt und breitete sich von ihm aus auf die ganze Oberfläche des Nährbodens aus. Die Verflüssigung fand genau in derselben Weise statt, wie bei den Plattenkulturen. Bei No. 2 war in der Stichkultur, trotzdem die Entwicklung nur an der Oberfläche stattfand, doch die ganze Gelatine im Probierring nach einiger Zeit flüssig.

2. Verhalten auf Hefewassergelatine.

So wie bei den Kulturen im Hefewasser, steht auch hier das Wachstum der Kolonien dem in Würzegelatine stark nach; infolgedessen sind die entstandenen Kolonien bedeutend kleiner. Die Verflüssigung tritt viel schneller auf.

Bei Nr. 2 war die Platte schon nach 3 Tagen vollständig wässerig, und zwar erinnerte diese Art der Verflüssigung der Gelatine an die Verflüssigung durch bestimmte Bakterien. In der verflüssigten Gelatine lösen sich die Kolonien vollständig auf. Mikroskopisch: primäre Konidien herrschen vor; Oidien sind selten.

Bei No. 3 war die Gelatine nach 4 Tagen auch wässerig verflüssigt; man konnte aber einzelne, freischwimmende, zusammenhängende Kolonien unterscheiden.

Bei No. 5 tritt die Verflüssigung verhältnismäßig rasch auf. Die Platte war schon nach 10 Tagen flüssig.

3. Verhalten auf Molkegelatine.

Molkegelatine hat sich für alle Organismen als sehr guter Nährboden erwiesen. Die Verflüssigung erfolgt auch hier rasch, und in derselben Weise wie bei Hefewasser. Sie ist bei No. 5 sogar etwas früher und vollständiger aufgetreten, nämlich nach 9 Tagen. Mikroskopisch ergab sich nichts außergewöhnliches; nur bei No. 5 waren die Oidien in zusammenhängenden Ketten angeordnet, sehr kräftig und meist abgerundet, mit deutlicher Membran.

4. und 5. Verhalten auf künstlichen Nährböden mit Asparagin- und Pepton-gelatine.

Beide sind als gute Nährböden zu bezeichnen. Die Verflüssigung trat wie bei Molkegelatine auf, mit Ausnahme von No. 5, wo sie erst nach 11 Tagen zu beobachten war.

6. Verhalten auf künstlichem Nährboden mit Ammoniumsulfat und 10 Proz. Gelatine.

Zuerst war die Entwicklung gehemmt, dann aber wuchsen die Kolonien gut. Bei No. 2 trat die Verflüssigung nach 4 Tagen auf. Bei No. 3 waren die Kolonien groß, zusammenhaltend und ohne deutliche Struktur. Bei Nr. 5 waren die Kolonien verhältnismäßig klein, etwas erhöht und in der Mitte ein wenig eingesunken. Nach 8 Tagen bildete sich um die Kolonie herum ein Kreis von feinen Strahlen.

7. Verhalten auf künstlichem Nährboden von der Zusammensetzung: 2,5 g Asparagin, 50 g Dextrose, 20 ccm H a y d u c k 'sche Minerallösung, 1000 ccm Wasser, 1,5 Proz. Agar.

Wie bei den Einzellkulturen gezeigt worden ist, ist auch hier nicht nur die Zusammensetzung, sondern auch die Konsistenz des Nährbodens von Bedeutung. Abgesehen davon, daß in agarhaltigen Nährböden keine Verflüssigung eingetreten ist, waren Form, Größe und das allgemeine Aussehen der Kolonien ganz verschieden von denen auf gelatinehaltigen Substraten. Die Kolonien von No. 2 und 3 zeigten eine gewisse Ähnlichkeit. Bezeichnend war für sie eine strahlenförmige Ausbreitung der Hyphen von einem etwas erhöhten, schmierigen Zentrum aus. Bei No. 5 war die Strahlenform der Hyphen fast dieselbe, die mittlere Partie dagegen stets fest und weiß. Mikroskopisch bestand die Strahlung aus Oidien, die kettenförmig angeordnet waren. Bei solchen Kolonien kann man noch leichter als bei Einzellkulturen die Fähigkeit, sekundäre Konidien zu bilden, verfolgen, indem man die Petrischale umdreht und so auf den Mikroskoptisch legt, daß die Nährbodenschicht der Frontallinse zugekehrt ist. Trotzdem man nur schwache Vergrößerungen verwenden kann, erhält man ein deutliches Bild von dem Bau der Kolonie, und insbesondere der Form der Randpartien. Wenn man die junge Kolonie in dieser Weise betrachtet, so besteht die Strahlung bei allen drei Organismen nur aus Hyphen, die später in Oidien zerfallen, an denen die Bildung sekundärer Konidien beginnt. Die sekundäre Konidienbildung ist bei No. 2 am stärksten, bei No. 5 am schwächsten.

β) Riesenkolonien.

In Ermangelung besserer Charakteristika zur Unterscheidung einzelner Arten von Sproßpilzen spielen die sogenannten Riesenkolonien, sowohl nach ihrem makroskopischen als auch mikroskopischen Aussehen beurteilt, eine große Rolle. Daß bei ihrer Herstellung äußere und innere Faktoren auf die Ausgestaltung der Kolonie von Einfluß sind, hat schon H u t c h i n s o n (11) nachgewiesen. Die Form der Riesenkolonien war bei den zu untersuchenden Organismen besonders variabel. Die Kolonien wurden in hohen P e t r i -schalen, nicht, wie es gewöhnlich geschieht, in Kolben, hergestellt. Dadurch vermeidet man, beim Photographieren die Kolben zerbrechen zu müssen. Ein kleiner Nachteil liegt allerdings darin, daß beim Benutzen von hohen

Petrishalen die Infektionsgefahr etwas vergrößert wird. Zur Anwendung kamen folgende Nährböden: Würzegelatine, Hefewassergelatine, Molkegelatine und Agar mit Dextrose und Asparagin. Von besonders charakteristischem Aussehen waren die Kolonien auf der Würzegelatine und dem agarhaltigen Nährboden, welche deshalb photographiert wurden. Alle Kolonien wurden bei Zimmertemperatur zur Entwicklung gebracht und, da ihr Wachstum sehr rasch vor sich ging, schon nach 12—16 Tagen photographiert.

No. 2. Auf gelatinehaltigen Nährböden kann eine Koloniebildung nicht erzielt werden, da schon nach 3—4 Tagen, noch ehe die Kolonie groß geworden ist, eine Verflüssigung der Gelatine eintritt. Dadurch sinkt die Kolonie unter und wird braun und schmierig. Mikroskopisch besteht sie hauptsächlich aus Konidien.

Auf dem agarhaltigen, künstlichen Nährboden wächst die Kolonie sehr rasch und hat nach 16 Tagen einen Durchmesser von 4,1 cm erreicht; sie ist weiß, schmierig, flach erhöht und nicht in den Nährboden eingesunken. Der Rand ist ganz schwach gezackt. Vom Rande erfolgt eine flache Erhöhung nach der unregelmäßig gewölbten Mitte hin. Die unregelmäßige Wölbung nimmt nicht den ganzen Mittelraum ein; von ihr gehen kaum merkliche Wellen in radiärer Richtung dem Rande zu. Mikroskopisch besteht der Rand der Kolonie aus Konidien und nur wenigen Oidien. Die Fläche vom Rande bis zur mittleren Wölbung besteht aus ungefähr gleich vielen Konidien und Oidien, die mittlere Wölbung dagegen fast ausschließlich aus Oidien. Proben, die vertikal ausgeführten Schnitten durch die Kolonie entnommen wurden, haben nichts Auffallendes gezeigt (Photographie IV).

No. 3. Riesenkolonien auf Würzegelatine. Die Kolonie ist rund, etwas eingesunken, ihr Durchmesser beträgt nach 12 Tagen 2,7 cm. Der Rand der Kolonie ist glatt und erscheint etwas grünlich, nach der Mitte zu wird die Kolonie allmählich braun. Ihre Oberfläche erscheint wie mit kleinen Pünktchen besetzt. Die Kolonie ist fest zusammenhaltend und unten etwas verflüssigt; sie besteht aus Hyphen und langen Oidien. Konidien trifft man nur ausnahmsweise (Photographie V).

Auf künstlichem Nährboden mit Agar erhält man nach 16 Tagen eine große, runde Kolonie von 5 cm Durchmesser. Sie ist weiß, glatt und schmierig und in das Nährsubstrat nicht eingesunken. Mikroskopisch besteht die Kolonie aus Oidien und Konidien; in der Mitte trifft man auch nicht selten Hyphen, die in Zerfall begriffen sind (Photographie VI).

No. 5. Riesenkolonie auf Würzegelatine. Die Kolonie ist vollständig rund, der Durchmesser beträgt nach 16 Tagen 3,9 cm. Die Vertiefung in der Mitte ist kraterförmig, von 0,8 cm Durchmesser, und erhöht sich am Rande der Vertiefung zu einem geschlossenen Ring. Dem glatten Rande zu gehen Strahlen. Die Länge der Strahlen wechselt; lange, die in einiger Entfernung von dem mittleren Ring ausgehen, wechseln ab mit kurzen, die ungefähr in der Mitte der Kolonie ihren Anfang nehmen. Die Strahlen sind rein weiß, und gehen, je mehr sie sich dem Krater nähern, in ein mattes Bräunlichweiß über. Der Krater ist auch matt, bräunlich weiß, nur hie und da trifft man an ihm rein weiße Pünktchen. Nach 3—4 Wochen sinkt die Kolonie unter und zugleich erfolgt eine Verflüssigung der Gelatine unter ihr. Inzwischen hat die Kolonie ein schmieriges Aussehen erhalten. Mikroskopisch bestehen Krater, Ring und die ihm anliegenden matten Partien aus Oidien, Konidien und wenigen Hyphen. Die Strahlung besteht hauptsächlich aus Oidien und sekundären Konidien (Photographie VII).

Die Riesenkolonie auf agarhaltigem Nährboden gleicht in ihrem äußeren Aussehen vollständig der Kolonie von Nr. 3 auf agarhaltigem Nährboden, nur war sie etwas kleiner. Auch sie war schwach erhöht und ohne Struktur. Mikroskopisch: außer gewöhnlichen Oidien trifft man auch an beiden Enden gekrümmte Oidien.

Überhaupt ergaben die Kolonien aller drei Organismen, trotzdem sie auf der Würzgelatine ganz verschieden aussahen, auf dem Agar ein sehr ähnliches Bild. Alle waren flach, schmierig und ohne besondere Struktur.

B. Physiologie.

Wenn man die bis jetzt vorliegenden Untersuchungen über Sproßpilze vergleicht, so findet man, daß bei den in den letzten Jahren ausgeführten die physiologische Betrachtung immer mehr und mehr in den Vordergrund tritt. Die physiologischen Eigentümlichkeiten der Sproßpilze sind aber auch so charakteristisch, daß sie vorteilhaft zur Diagnose der Organismen benutzt werden können. Dabei spielt das Gärvermögen der Sproßpilze eine besonders hervorragende Rolle. Infolgedessen ist bei den zu untersuchenden Organismen der größte Wert auf die Beobachtung eines eventuellen Gärungsverlaufes gelegt worden. Außerdem ist auch das Temperaturoptimum ermittelt worden, sowie die Beeinflussung der Organismen durch verschiedene Temperaturen. Ferner wurde beobachtet die Wirkung von Alkohol und verschiedenen organischen Säuren, sowie auch die maximalen Mengen von Alkohol und Säuren, die von den Organismen vertragen werden, und auch die Assimilation von verschiedenen organischen Säuren. Es wurden auch Versuche angestellt, um die Assimilation des N aus verschiedenen N-quellen, und die Assimilation des Luft-N zu ermitteln, sowie auch eine Assimilation von verschiedenen Zuckerarten, die nicht immer mit Gärvermögen parallel zu gehen braucht. Außerdem ist dem Auftreten von Enzymen Aufmerksamkeit geschenkt worden.

a) E n z y m b i l d u n g.

Die Anwesenheit tryptischer Enzyme ist aus der Verflüssigung der Gelatine eindeutig zu beweisen. Wie aus der Morphologie ersichtlich ist, war die Fähigkeit, die Gelatine zu verflüssigen, bei allen 3 Organismen vorhanden; am stärksten bei No. 2, etwas schwächer bei No. 3 und verhältnismäßig schwach bei No. 5. Da an den verflüssigten Platten ein Geruch nach Ammoniak nicht wahrnehmbar war, erfolgt der Abbau der Eiweißstoffe wahrscheinlich nur bis zu den Aminosäuren. Alle Organismen, die aus verflüssigten Platten stammten, waren lebensfähig und sahen mikroskopisch ganz gesund aus. Deshalb ist anzunehmen, daß die tryptischen Enzyme nicht von abgetöteten Zellen, sondern von solchen, die in lebendem Zustande sich befinden, ausgeschieden werden.

Gelase, die eine Verflüssigung des Agars bewirkt (12), ist nirgends beobachtet worden.

Versuche, das fettspaltende Enzym Lipase aufzufinden, blieben auch erfolglos, auch ist Diastase nirgends nachgewiesen worden.

Das Vorkommen von Katalase ist in der üblichen Weise (13) nachzuweisen versucht worden. Es wurden einige cem der zu untersuchenden Kulturflüssigkeit mit einigen cem 1 proz. Wasserstoffsperoxyd versetzt. Am deutlichsten war die Gasblasenbildung bei No. 5 bemerkbar; bei No. 2 dagegen sind fast keine Gasblasen aufgestiegen. Bei Nr. 3 war die Gasblasenbildung

scheinbar etwas schwächer als bei No. 5. Ein sicherer Nachweis von Katalase ist darin jedoch nicht zu erblicken. Die Organismen sind also wohl befähigt, tryptische Enzyme reichlich zu produzieren, sonst aber enzymarm.

b) Verhalten der Organismen gegen organische Säuren.

Die Untersuchungen von Will und Geiger stellen fest, daß einige organische Säuren von den Sproßpilzen ohne Sporenbildung stark oder schwach assimiliert werden, andere dagegen hemmende oder Gift-Wirkung auf die Organismen ausüben. Die diesbezüglichen Untersuchungen sind von 2 Gesichtspunkten aus vorgenommen worden: 1. Assimilation der organischen Säuren und 2. Grenzkonzentration der Säuren, bei welcher weiteres Wachstum nicht mehr stattfindet. Um über den ersten Punkt ins Klare zu kommen, war die quantitative Bestimmung des Säuregrades unerläßlich. Diese Bestimmung geschah durch Titration mit $\frac{1}{10}$ n NaOH, mit Phenolphthalein als Indikator. Als Nährlösung diente neutrales Hefewasser, welches, wie bekannt, keine Kohlenhydrate enthält. So daß eine Bildung von Säuren aus den Zuckerarten und ein eventueller Einfluß so gebildeter Säuren völlig ausgeschlossen war. In Hinsicht auf den zweiten Punkt ist das Quantum der Säuren successive erhöht worden, bis die Grenzkonzentration, bei der ein weiteres Wachstum nicht mehr stattfindet, erreicht wurde. Es sind Versuche angestellt worden mit $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1 usw. Proz. Säure, die auch in dem Hefewasser gelöst war. Nach 3 Wochen konnte man beobachten, bei welchem Säuregehalt die Organismen nicht mehr zur Entwicklung gelangen. Es sind folgende Säuren in Betracht gezogen worden: Ameisensäure, Apfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Essigsäure, Milchsäure, Oxalsäure, und Weinsäure.

Die Assimilationsversuche sind in kleinen Erlenmeyerkolben durchgeführt worden. Es wurden je 10 cm³ säurehaltiges Hefewasser abgefüllt und vor dem Einimpfen die entsprechenden Kontrollproben mit $\frac{1}{10}$ n NaOH titriert. Die Kölbchen standen 4 Wochen bei Zimmertemperatur, und nachher wurde der Säuregehalt titrimetrisch ermittelt. Um eine Einführung fremder Nährstoffe zu vermeiden, sind etwas Organismen von der Oberfläche einer entwickelten Strichkolonie vorsichtig entnommen und eingeimpft worden. Daß die Säuren bei den Organismen die Kohlenhydrate bis zu einem gewissen Grade vertreten können, wird dadurch bewiesen daß ihre Entwicklung bei Anwesenheit von Säuren, mit Ausnahme von Essig- und Oxalsäure, gut vor sich ging. Die Resultate der Assimilation von Säuren sind in folgender Tabelle festgestellt:

Säuren	Säuregehalt ausgedrückt in cem 1/10 n NaOH pro 10 cem Nähr- lösung in den Kontroll- proben	No. 2		No. 3		No. 5	
		Ver- brauchte cem 1/10 n NaOH	Assimi- lierte Mengen von Säuren	Ver- brauchte cem 1/10 n NaOH	Assimi- lierte Mengen von Säuren	Ver- brauchte cem 1/10 n NaOH	Assimi- lierte Mengen von Säuren
Ameisensäure	2,1	1,4	0,7	1,0	1,1	1,0	1,1
Apfelsäure . .	4,3	0	4,3	0	4,3	0	4,3
Bernsteinsäure	3,85	0	3,85	0	3,85	0	3,85
Zitronensäure.	3,5	0	3,5	0	3,5	0	3,5
Essigsäure . .	3,3	3,3	0	3,15	0,15	3,3	0
Milchsäure . .	2,0	0	2,0	0	2,0	0,3	1,7
Oxalsäure . .	4,0	4,0	0	3,6	0,4	3,4	0,6
Weinsäure . .	3,65	0,2	3,45	0	3,65	1,1	2,55

In der Assimilation von Säuren zeigen alle drei Organismen auffallende Übereinstimmung untereinander. Essigsäure und Oxalsäure werden nicht assimiliert, dementsprechend ist die Entwicklung der Organismen bei Anwesenheit dieser Säuren sehr schwach, vielleicht noch etwas schwächer als in Hefewasser allein. Infolgedessen sind diese Säuren als hemmende Faktoren auf die Entwicklung der Organismen aufzufassen. Sonst ist die Assimilation der organischen Säuren ausgezeichnet; Apfelsäure, Bernsteinsäure und Zitronensäure werden vollständig verbraucht. Milchsäure wird nur von No. 2 und No. 3 vollständig verbraucht, bei No. 5 dagegen waren ganz kleine Mengen, nämlich 0,3 ccm von NaOH, zur Neutralisation notwendig. Auch Weinsäure wird gut assimiliert, von No. 3 vollständig, von No. 2 beinahe vollständig; am schwächsten war ihr Verbrauch bei No. 5. Im allgemeinen war der Säurebedarf bei No. 5 etwas geringer als bei beiden anderen Organismen. Für *Pseudomonilia* und jene Sproßpilze, die von Schimon beschrieben sind, ist Ameisensäure ein direktes Gift, in deren Lösung die Organismen gar nicht zur Entwicklung gelangen. Bei den vorliegenden Organismen dagegen erfolgt noch eine mittelmäßige Assimilation der Ameisensäure und dementsprechend ein schwaches Wachstum in Lösungen wo sie vorhanden ist. Die Grenzwerte der von den Organismen ertragenen Säurekonzentrationen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt und in Proz. der Säuren, die im Hefewasser gelöst waren, ausgedrückt:

Säuren	No. 2	No. 3	No. 5
Ameisensäure	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
Apfelsäure	2	2	2
Bernsteinsäure	2	3	2
Zitronensäure	3	4	4
Essigsäure	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$
Milchsäure	2	3	2
Oxalsäure	1	1	1
Weinsäure	2	2	2

Essigsäure wird von allen Organismen am wenigsten vertragen, und zwar liegt der Grenzwert bei $\frac{1}{4}$ Proz.; bei Ameisensäure liegt der Grenzwert etwas höher, nämlich bei $\frac{1}{2}$ Proz. Das merkwürdigste Verhalten zeigen die Organismen in Oxalsäure; trotzdem nämlich diese Säure von den Organismen gar nicht assimiliert wird, und es anzunehmen wäre, daß sie hemmend auf sie wirkt, wird sie in einer Konzentration bis zu 1 Proz. vertragen. Das Maximum von ertragenen Säuren wird bei den Organismen No. 3 und No. 5 mit Zitronensäure erreicht, nämlich mit 4 Proz.

c) Bildung von Säuren aus Zuckerarten und eventl. Verbrauch der gebildeten Säuren.

Die Zuckerarten werden von den Sproßpilzen bei der Atmung abgebaut; dabei treten Säuren als Zwischenprodukte auf. Wie im vorhergehenden Abschnitte gezeigt wurde, dienen manche Säuren als gute Kohlenstoffquellen für die Organismen; infolgedessen können Säuren die zuerst aus Zuckerarten gebildet wurden, nachträglich von den Organismen verbraucht werden. In Erlenmeyerkölbchen wurden je 10 cm³ zuckerhaltiges Hefewasser

abgefüllt, dann die Organismen eingimpft und nach 2, 4, 8 und 10 Wochen der Säurevermehrung oder eventuell die Säureverminderung titrimetrisch ermittelt. Die Organismen wurden bei Zimmertemperatur zur Entwicklung gebracht. Als Zuckerarten dienten: Dextrin, Dextrose, Galaktose, Laevulose, Maltose, Milchzucker, Raffinose und Saccharose. Die erhaltenen Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt und in verbrauchten cem $\frac{1}{10}$ normaler NaOH pro 10 cem Lösung ausgedrückt:

Zuckerarten	Dextrin				Dextrose			
	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	10 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	10 Wochen
No. 2 . .	1,2	1,6	1,8	0,8	1,7	1,7	1,1	0,9
No. 3 . .	0,5	0,8	0,5	0	1,3	1,6	1,6	0,3
No. 5 . .	0,6	0,7	0,7	0	1,1	1,2	0,1	0
Zuckerarten	Galaktose				Laevulose			
	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	10 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	10 Wochen
No. 2 . .	1,0	0,7	0,9	0,7	1,1	1,5	1,4	1,2
No. 3 . .	0,8	0,6	0,6	0,5	1,3	1,0	1,0	1,0
No. 5 . .	0,7	0,5	0,5	0,5	1,4	1,3	1,2	1,2
Zuckerarten	Maltose				Milchzucker			
	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	10 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	10 Wochen
No. 2 . .	1,0	1,3	0,2	0	0,2	0,5	0,6	0,2
No. 3 . .	1,3	1,1	0,6	0,4	0,4	0,3	0,3	0
No. 5 . .	0,7	0,9	0,4	0	0,6	0,5	0,6	0,2
Zuckerarten	Raffinose				Saccharose			
	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	10 Wochen	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	10 Wochen
No. 2 . .	1,4	1,4	0,8	0,7	0,9	1,2	1,4	1,2
No. 3 . .	0,9	1,1	0,7	0,3	1,3	1,8	1,7	0,9
No. 5 . .	0,8	1,0	0,5	0	1,4	1,3	1,4	1,0

Einige Säuren wurden, wie früher gezeigt, vollständig assimiliert. Die kleinen Säuremengen, die zuerst aus Zuckerarten gebildet wurden, sind von den Organismen aber trotzdem nur in seltenen Fällen verbraucht worden. Diese Erscheinung steht scheinbar im Gegensatz dazu, daß Säuren im allgemeinen gut assimiliert werden; sie findet aber ihre Erklärung darin, daß, so lange noch andere leichter assimilierbare Kohlenstoffquellen vorhanden sind, die Säuren nicht angegriffen werden.

d) Bildung von Säuren aus Milch und Verbrauch der gebildeten Säuren.

Da die Beschreibung der Organismen parallel mit der Untersuchung von *Oospora* (*Oidium*) *lactis* geht, welche bekanntlich Milchprodukte beeinflußt, wurde der Reaktionsveränderung der Milch unter dem Einflusse der Organismen besondere Aufmerksamkeit zugewendet. Die titrimetrische Bestimmung des Aciditätsgrades der Milch ist nach Pfeiffer (14) durchgeführt worden.

Es ergaben sich folgende Resultate; sie sind in verbrauchten cem $\frac{1}{10}$ normaler NaOH pro 10 cem Milch ausgedrückt worden:

Organismen	Verbrauchte cem $\frac{1}{10}$ n NaOH am Anfang	nach 2 Wochen	nach 4 Wochen	nach 8 Wochen	nach 10 Wochen
No. 2.	1,2	3,6	3,2	2,0	1,9
No. 3.	1,2	5,3	3,0	2,1	1,8
No. 5.	1,2	3,1	2,9	2,6	2,0

Die Bildung der zuerst auftretenden Säuren war nach einem Zeitraum von zirka 8 Wochen in Abnahme begriffen, dann blieb die Acidität der Milch beinahe konstant, und nach 10 Wochen war nur eine kleine Abnahme, im Vergleich mit der nach 8 Wochen stattgehabten, zu konstatieren. Die Acidität der Milch nach 10 Wochen war etwas höher, als diejenige am Anfang des Versuches. Die stärkste Säurebildung trat bei No. 3 auf, und zwar in der ersten Zeit; trotzdem ist nach 4 Wochen der Säuregehalt auch hier auf die gleiche Stufe wie bei den anderen heruntergegangen.

e) Verhalten der Organismen gegen verschiedene Temperaturen.

Das Temperaturoptimum war für alle 3 Organismen sehr niedrig: Für No. 2: 23°—25°; für No. 3: 22°—24°; für No. 5: 20°—22°. Schon bei einer anhaltenden Temperatur von 25° war eine merkliche Hemmung in der Entwicklung der Organismen nachzuweisen. Eine Ausnahme bildete manchmal No. 2, dessen Optimum überhaupt etwas höher als das von No. 3 und No. 5 liegt. Bei einer anhaltenden Temperatur von 30° hatten die Organismen längere Zeit nötig, um überhaupt zur Entwicklung zu gelangen. Wenn man die Kulturen, die 3 Tage einer Temperatur von 30° ausgesetzt waren, aus dem Thermostaten herausnahm und ihre weitere Entwicklung bei Zimmertemperatur beobachtete, so war zu konstatieren, daß No. 2 sich zuerst entwickelte; es war nämlich nach 3 Tagen schon eine Kahlhaut vorhanden. Die beiden anderen dagegen kamen erst nach einer Woche zur Entwicklung und auch dann beschränkte sich das Wachstum auf das Innere der Kultur.

Um das Verhalten der Organismen gegen noch höhere Temperaturen zu studieren, sind sie in mit je 10 cm³ Bierwürze gefüllte Erlenmeyerkölbehen eingimpft und im Wasserbade langsam bis zu folgenden Temperaturen erwärmt worden: 40°, 45°, 50°, 55°, 60°, 65°, und 5 Minuten diesen Temperaturen ausgesetzt worden. Als Kontrolle der Temperaturen diente ein neben die Kulturkölbehen in das Wasserbad gestelltes Kölbehen mit 10 cm³ Würze, in welche ein Thermometer eingetaucht war. Hierauf wurden die Kulturen bei Zimmertemperatur stehen gelassen und ihre erste merkliche Entwicklung notiert. Entsprechend seinem niederen Optimum, zeigte No. 5 besondere Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen; seine Entwicklung wurde schon nach Einwirkung der Temperatur von 50° stark gehemmt, und bei 55° scheint der Organismus überhaupt abgetötet zu werden. Für No. 3 liegt die Temperatur, welche tödlich wirkt, etwas höher, nämlich bei 65°; bei No. 2 dagegen war nach Einwirkung dieser Temperatur doch noch ein, wenn auch schwaches Wachstum vorhanden.

Temperaturgrad	Entwicklung bei No. 2 nach Tagen	Entwicklung bei No. 3 nach Tagen	Entwicklung bei No. 5 nach Tagen
40	2	2	3
45	3	3	4
50	5	5	6
			schwach
55	6	6	0
60	8	7	0
65	14	0	0
	schwach		

f) N-Assimilation.

Um über die N-Assimilation bei den vorliegenden Organismen ins Klare zu kommen, sind folgende Fragen gestellt worden: Wie geschieht die Assimilation 1. von atmosphärischem N?, 2. von N aus verschiedenen N-Quellen: a) Asparagin, b) Pepton, c) Ammoniumsulfat?, 3. wie wird die Assimilation des N durch verschiedene Zuckerarten beeinflusst?

Die Bestimmung des organischen N ist nach der Kjeldahlschen Aufschließungsmethode durchgeführt worden. Die Bestimmung des Ammoniak-N geschah durch Freimachen von Ammoniak mit *Magnesia usta*, Auffangen des freigemachten Ammoniaks mit $\frac{1}{10}$ n Schwefelsäure und Zurücktitrieren der unverbrauchten Schwefelsäure mit $\frac{1}{10}$ n NaOH (15).

I. Assimilation des atmosphärischen N. Nachdem man Bakterien, welche elementaren N binden, aufgefunden hatte, richtete man die Aufmerksamkeit auf die Luft-N-Assimilation von anderen höheren und niederen Pflanzen. Die Behauptungen über das Vermögen, Luft-N zu assimilieren, sind soweit gegangen, daß man es nicht nur den chlorophyllosen, sondern auch allen grünen Pflanzen zugeschrieben hat (16). Daß die niederen Pilze das Vermögen, elementaren N zu assimilieren, besitzen, ist von verschiedenen Seiten bewiesen worden; interessante Resultate enthält eine der letzteren Arbeiten auf diesem Gebiete von Stahl (17). Er konstatiert, daß das Wachstum einiger Pilze schon bei Anwesenheit von minimalen Spuren von N im Nährboden vor sich geht und infolgedessen eine Luft-N-Assimilation unerläßlich ist. Durch Ch. Ternetz (18) ist die Luft-N-Assimilation für symbiontisch auf der Wurzel von Ericaceen lebende Pyknidenpilze (*Phoma* arten) bewiesen worden. Im übrigen findet man die Zusammenfassung der Literatur in der letzten Arbeit über die „Stickstoffernährung der Schimmelpilze“ bei Widar Brenner (19).

In Lösungen, welche keinerlei N-Quelle enthielten, fand keine Vermehrung der Organismen statt; wenn in solchen Lösungen trotzdem manchmal eine ganz schwache Vermehrung der Organismen beobachtet wurde, so ist diese lediglich durch anwesende Staubverunreinigungen, sowie durch Verunreinigungen der Dextrose, welche als Kohlenstoffquelle diente, zu erklären. Infolgedessen läßt sich wohl die Behauptung aufstellen, daß keine Luft-N-Assimilation stattfindet.

2. Assimilation des N aus verschiedenen N-Quellen. Als N-Quellen dienten Asparagin, Pepton und Ammoniumsulfat. Vor dem Verbrauch wurde der N in Kontrollproben bestimmt; dann wurden die Organismen eingepflegt, und bei Zimmertemperatur 28 Tage stehen gelassen. Um beim

Impfen möglichst wenig fremden N einzuführen, ist von den Strichkulturen der betreffenden Organismen eine Verdünnung in Wasser hergestellt worden, und von dieser sind dann erst 2 Platinösen eingepfzt worden. Nach 28 Tagen werden die Organismen abfiltriert, gut ausgewaschen und der N-Gehalt des Filtrates bestimmt. Aus der Differenz des N-Gehaltes in den Kontrollproben und desjenigen in den Filtraten der Kulturflüssigkeiten ist leicht ersichtlich, wie viel N aus der betreffenden N-Quelle verbraucht worden ist.

In der folgenden Tabelle sind die Resultate in mg pro 10 ccm Lösung ausgedrückt:

N-Quellen	Vor dem Versuch mg N pro 10 ccm Lösung	No. 2		No. 3		No. 5	
		Nach 28 Tagen mg N pro 10 ccm Lösung	Menge d. assimi- lierten N	Nach 28 Tagen mg N pro 10 ccm Lösung	Menge d. assimi- lierten N	Nach 28 Tagen mg N pro 10 ccm Lösung	Menge d. assimi- lierten N
Ammoniumsulfat	5,32	3,52	1,80	3,56	1,76	3,50	1,82
Asparagin	4,62	2,36	2,26	1,12	3,50	2,52	2,10
Pepton	3,36	1,12	2,24	1,40	1,96	1,40	1,96

Von allen gebotenen N-Quellen wird der N des Asparagins am besten assimiliert. Bei Organismus No. 3 wird von ihm auffallend viel, nämlich $\frac{3}{4}$ des gebotenen N verbraucht. Auch Pepton ist eine gute N-Quelle, besonders für No. 2. Von No. 3 und No. 5 wird Pepton in gleichen Mengen verbraucht. In Lösungen, in denen Ammoniumsulfat als N-Quelle zur Verfügung stand, war die Entwicklung, wie es schon im morphologischen Teil gezeigt wurde, schwach. Es wird aber trotzdem von den Organismen ziemlich stark angegriffen, und sein N-Gehalt vermindert sich nach dem Versuch merklich.

3. Beeinflussung der N-Assimilation durch verschiedene Zuckerarten. Hier hat Hefewasser, in dem die verschiedenen Zuckerarten gelöst waren, als N-Quelle gedient. Es gelangten dieselben Zuckerarten zur Anwendung wie bei dem Versuch über Säurebildung aus den Zuckerarten, mit Ausnahme von Raffinose. Außerdem ist die N-Assimilation in der Würze, wo den Organismen verschiedene Verbindungen als Kohlenstoffquelle dienen können, bestimmt worden. Die Mengen des N im Hefewasser sind sehr variabel; bei den ausgeführten Untersuchungen schwankten sie zwischen 2,24 mg und 3,64 mg pro 10 cm³ Hefewasser. Die N-Bestimmung ist nach einem Zeitraum von 4 Wochen durchgeführt worden, und die erhaltenen Resultate sind folgende:

Zuckerarten	N in mg pro 10 ccm Hefewasser am Anfang	No. 2		No. 3		No. 5	
		N in mg nach 28 Tagen	assimi- lierte Menge von N mg	N in mg nach 28 Tagen	assimi- lierte Menge von N mg	N in mg nach 28 Tagen	assimi- lierte Menge von N mg
Dextrin	2,24	1,40	0,84	1,26	0,98	1,26	0,98
Dextrose	2,38	1,54	0,84	1,68	0,70	1,40	0,98
Galaktose	3,36	2,80	0,56	2,52	0,84	2,94	0,42
Lävulose	2,52	1,96	0,56	1,82	0,70	1,82	0,70
Maltose	3,50	1,96	1,54	1,96	1,54	1,54	1,96
Milchzucker	3,64	0,98	2,66	1,54	2,10	1,12	2,52
Saccharose	3,64	3,08	0,56	3,36	0,28	3,08	0,56
Bierwürze	7,14	6,30	0,84	6,02	1,12	5,74	1,40

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß die Zuckerarten einen unzweideutigen Einfluß auf die N-Assimilation ausüben. Die stärkste Assimilation hat bei Anwesenheit von Milchzucker stattgefunden. Bei Saccharose waren die gebotenen N-Mengen die gleichen wie bei Milchzucker; trotzdem sind aber nur minimale Mengen assimiliert worden. Auffallend schwach war die Assimilation bei No. 3, wo nur 0,28 mg verbraucht wurden. In der Bierwürze war der Verbrauch an N verhältnismäßig gering, trotzdem die Organismen darin sehr gut wachsen.

g) Verhältnis der Organismen zum Aethylalkohol.

Wenn den Organismen nur Alkohol allein als org. Kohlenstoffquelle geboten wird, und zugleich Ammoniumsulfat als anorganische N-Quelle, so ist das Wachstum bedeutend schwächer, als in den Kulturen mit Hefewasser und Ammoniumsulfat. In dieser Lösung war die stärkste Entwicklung bei No. 5 zu konstatieren. Außerdem ist bei der Untersuchung auf folgendes geachtet worden:

1. Verhalten der Organismen gegen verschiedene Zusätze von Alkohol.

Wenn man dem Nährboden, z. B. der Würze, Alkohol in kleinen Mengen zusetzt, so geht die Entwicklung mancher Organismen viel besser vor sich, als ohne Alkoholzusatz, trotzdem ein Verbrauch von Alkohol nicht stattfindet. Diese Tatsache hat Will (20) auch bei *Mycoderma* konstatiert. Diese wachstumanregende Wirkung ist bei Zusatz kleiner Alkoholmengen, nämlich bis zu 3 Proz., bei den zu beschreibenden Organismen nachweisbar. Wenn dagegen der Alkoholzusatz erhöht wird, erfolgt eine Hemmung in der Entwicklung der Organismen bis zu ihrem vollständigen Absterben, je nach der Menge des zugesetzten Alkohols. In der Arbeit über *Mycoderma* hat Will gezeigt, daß die Grenzwerte von den jeweils benützten Kulturlösungen, welchen der Alkohol zugesetzt wird, abhängig sind. So lag z. B. der Grenzwert der Entwicklung für eine *Mycoderma* art in gehopfter Bierwürze bei 10 Proz. Gehalt an Alkohol, in Hefewasser dagegen nur bei 6 Proz. Diese Tatsache traf für die hier zu beschreibenden Organismen nicht zu; in dem Hefewasser mit Alkoholzusatz trat die Entwicklung 2—3 Tage später, als in der alkoholhaltigen Würze ein. Die Grenzwerte waren folgende: für No. 2: 12 Vol. Proz. Alkohol; für No. 3: 10 Vol. Proz. Alkohol; für No. 5: 6 Vol. Proz. Alkohol. Mit der Höhe der zugesetzten Alkoholmengen nahm die Zeit zu, die notwendig war, bis eine merkliche Entwicklung der Organismen eintrat.

Alkohol Vol. % in Würze	No. 2	No. 3	No. 5
	Erste Entwicklung nach Tagen	Erste Entwicklung nach Tagen	Erste Entwicklung nach Tagen
Ohne Alkohol- zusatz	1	2	2
2	2	2	3
3	2	3	5
5	12	14	16
7½	18	24	0
10	21	24	0
12	25	schwach 0	0
	schwach		

No. 5 unterscheidet sich in seinem Verhalten gegen Alkoholzusatz deutlich von den beiden anderen Organismen, sogar bei Zusatz von 3 Vol. Proz. Alkohol ist die Entwicklung etwas verzögert, und tritt erst nach 5 Tagen ein. No. 2 stellt sich in seinem Verhalten gegen Alkoholzusatz in einen Gegensatz zu No. 5; sein Grenzwert liegt hoch, sogar noch etwas höher, als bei der erwähnten *Mycoderma* art, nämlich bei 12 Vol. Proz. Alkohol. Bei diesem Zusatz tritt erst nach 25 Tagen eine ganz schwache Entwicklung auf.

2. Alkoholbildung aus Zuckerarten und eventueller Verbrauch des gebildeten Alkohols.

Wenn man den verschiedenen Sproßpilzen Zucker darbietet, kann dieser entweder direkt veratmet werden, oder es kann als Zwischenprodukt Alkohol auftreten. Die letzte Erscheinung ist besonders stark bei *Saccharomyces* arten nachweisbar. Sie wird als Gärung bezeichnet. Bei den Sproßpilzen ohne Sporenbildung ist das Gärvermögen meist in schwachem Maße vorhanden; es ist aber charakteristisch für bestimmte Arten. Doch ist auch die Möglichkeit vorhanden, daß der aus den Zuckerarten gebildete Alkohol von den Organismen als Kohlenstoffquelle benützt, und daß dadurch nach längerer Zeit eine Verminderung des zuerst gebildeten Alkohols bedingt wird. Deshalb war es nötig, die Versuche so anzuordnen, daß längere Zeit hindurch, und zwar je nach bestimmten Zeitabschnitten, 2, 4, 8, 10 Wochen, Alkoholbestimmungen durchgeführt wurden. Als erster orientierender Versuch zwecks Feststellung des Gärvermögens der Organismen wird gewöhnlich die Kleingärmethode nach Lindner angewandt; da bei ihrer Ausführung die Wirkung der Organismen auf die Zuckerarten nur kurze Zeit dauert, kann sie nur als Vorversuch betrachtet werden, und es sind deshalb Bestimmungen des Alkoholgehaltes aus größeren Mengen von Kulturlösungen, in welchen Organismen gewachsen sind, unerläßlich. Diese quantitative Bestimmung ist durchgeführt worden, indem man das spezifische Gewicht des Destillates der betreffenden Kulturflüssigkeiten pyknometrisch bestimmte. Als Kontrolle zu den quantitativen Bestimmungen diente der qualitative Nachweis des Alkohols in den betreffenden Destillaten. Zum qualitativen Nachweis des Alkohols ist die Jodoformreaktion in Anwendung gebracht worden (21). Die Resultate, welche quantitativ ermittelt wurden, sind in Volumprozenten Alkohol ausgedrückt und in der Tabelle 1 auf p. 24 zusammengestellt.

Solche Mengen von Alkohol, welche unter 0,20 Proz. liegen, sind, da sie in den Fehlergrenzen der Bestimmung sich befinden, als „Spuren“ bezeichnet worden. Solche Spuren von Alkohol waren bei der Jodoformreaktion durch deutlichen Geruch wahrnehmbar. Die Bildung des Alkohols vollzog sich meist nach längerer Zeit, und nur in seltenen Fällen ist der gebildete Alkohol von den Organismen angegriffen worden; infolgedessen war eine Abnahme des Alkoholgehaltes selten nachweisbar, und die Alkoholmengen nach 10 Wochen waren meist höher als diejenigen nach 8 Wochen.

Parallel mit der Bildung von Alkohol geht der Verbrauch von Zucker; außerdem kann aber der Zucker auch direkt, ohne daß er zu Alkohol umgesetzt wird, von den Organismen verbraucht werden. Um das zu konstatieren, wurde eine Bestimmung des Zuckergehaltes vorgenommen. Sie wurde gewichtsanalytisch mit Fehling'scher Lösung in gleichen Zeitabschnitten wie die Alkoholbestimmung durchgeführt. Die Zuckerbestimmungen für Dextrose, Laevulose, Maltose, Saccharose wurden nach Lunge

Tabelle 1.

Zucker- arten	No. 2				No. 3				No. 5			
	nach 2 Wochen	nach 4 Wochen	nach 8 Wochen	nach 10 Wochen	nach 2 Wochen	nach 4 Wochen	nach 8 Wochen	nach 10 Wochen	nach 2 Wochen	nach 4 Wochen	nach 8 Wochen	nach 10 Wochen
Dextrin . . .	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	0	Spuren	0,44	0,53	0	Spuren	0,62	0,62
Dextrose . . .	Spuren	0,36	0,49	0,53	Spuren	1,07	0,89	Spuren	Spuren	Spuren	0,95	1,07
Galaktose . . .	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	0,63	0,63
Maltose . . .	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	1,33	0	1,24	0	Spuren	0,46	0,53
Milchzucker .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Spuren	0	0
Laevulose . .	Spuren	0,45	0,53	0,53	Spuren	0,53	0,53	0,53	Spuren	0,63	0,53	0,53
Saccharose . .	0,45	0,45	0,99	1,20	Spuren	0,80	1,16	0,93	0,63	0,63	1,33	1,60
Bierwürze . .	Spuren	0,45	0,45	0,72	Spuren	Spuren	0,26	0,36	3,36	0,45	0,45	0,89

Tabelle 2.

Zuckerarten	Zucker- gehalt vor dem Versuch	No. 2				Menge des ver- brauch- ten Zuckers	No. 3				Menge des ver- brauch- ten Zuckers	No. 5				Menge des ver- brauch- ten Zuckers
		nach 2 Wo- chen	nach 4 Wo- chen	nach 8 Wo- chen	nach 10 Wo- chen		nach 2 Wo- chen	nach 4 Wo- chen	nach 8 Wo- chen	nach 10 Wo- chen		nach 2 Wo- chen	nach 4 Wo- chen	nach 8 Wo- chen	nach 10 Wo- chen	
Dextrin . . .	3,72	3,22	3,18	3,14	3,00	0,72	3,30	3,24	3,18	2,98	0,74	2,18	2,92	2,75	2,56	1,16
Dextrose . . .	3,74	3,07	2,91	2,76	2,56	1,18	3,02	2,80	2,56	2,37	1,37	3,13	2,93	2,73	2,69	1,05
Galaktose . . .	3,72	3,16	2,96	2,46	2,32	1,40	3,12	2,98	2,58	2,44	1,28	3,15	2,92	2,68	2,38	1,34
Laevulose . . .	4,35	4,08	3,72	3,58	3,29	1,06	4,15	3,78	3,61	3,56	0,79	3,60	3,44	3,11	2,88	1,47
Maltose . . .	3,34	3,16	3,12	3,02	2,89	0,45	3,07	3,00	2,90	2,71	0,63	2,81	2,62	2,20	2,10	1,24
Milchzucker . .	3,84	3,37	3,27	3,15	3,06	0,78	3,09	3,00	2,76	2,54	1,30	3,12	3,05	2,74	2,48	1,36
Saccharose . .	4,34	4,00	3,82	3,18	3,04	1,30	3,69	3,45	3,22	3,15	1,19	3,40	3,04	2,69	2,34	2,00
Bierwürze . . .	6,51	6,12	6,03	5,70	5,46	1,05	6,28	6,18	6,01	5,88	0,63	6,16	6,08	5,86	5,78	0,73

(22); Dextrin und Milchzucker nach K ö n i g (23); Galaktose nach S t e i - g e r (24) ausgeführt. Vor dem Einimpfen der Organismen ist auch in den Kontrollproben die Zuckerbestimmung durchgeführt worden. Die erhaltenen Resultate in Prozenten ausgedrückt, sind aus der Tabelle 2 auf p. 24 ersichtlich.

Die Abnahme des Zuckergehaltes der Lösungen erfolgt bei einem und demselben Organismus gleichmäßig. Im allgemeinen ist die Abnahme in den ersten 2 Wochen am stärksten; später geht sie langsamer vor sich. Wenn man diese und die beiden Tabellen in Betracht zieht, so erhält man ein Bild über das Gärvermögen und die Zuckerassimilation der Organismen.

Dextrin wird von No. 3 und No. 5 schwach vergoren, bei No. 2 dagegen waren nur Spuren von Alkohol nachweisbar. Am intensivsten wird es durch No. 5 verarbeitet, bei welchem auch die stärkste Gärung stattgefunden hat.

Dextrose wird von allen 3 Organismen vergoren; dementsprechend wird sie auch in ziemlich starkem Maße verbraucht. Das Gärvermögen war hier bei No. 2 am schwächsten; bei No. 3 und No. 5 war es gleich.

Galaktose wird nur durch No. 5 schwach vergoren. Bei No. 2 und No. 3 war Alkohol nur in Spuren nachweisbar.

Laevulose: Bei allen 3 Organismen konstatierte man nur sehr schwache Gärung. Laevulose ist am stärksten durch No. 5 verarbeitet worden.

Maltose: Bei No. 2 war Alkohol nur in Spuren nachweisbar, bei No. 3 dagegen war die Gärung verhältnismäßig stark, bei No. 5 war eine schwache Gärung wahrnehmbar; trotzdem war der Bedarf an Zucker bei No. 5 doppelt so groß wie bei No. 3 und ungefähr dreifach so groß wie bei No. 2.

Milchzucker: Trotzdem in den Kulturlösungen mit Milchzucker keine Gärung stattgefunden hat, war der Zucker von den Organismen stark verbraucht worden.

Saccharose: Die Gärung war ziemlich stark, besonders bei No. 5, wo nach 10 Wochen 1,60 % Alkohol nachweisbar waren; dementsprechend war bei No. 5 der Verbrauch an dieser Zuckerart am stärksten, nämlich 2 Proz.

In der Bierwürze fand nur eine schwache Gärung statt, und dementsprechend war auch die Assimilation der in ihr befindlichen Zuckerarten schwach.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Gärfähigkeit bei diesen Organismen schwach ist. Auffallend intensiv ist die Assimilation der Zuckerarten bei No. 5; beinahe alle von den gebotenen Zuckerarten werden durch diesen Organismus im Vergleich zu den anderen am stärksten assimiliert. Dabei ist auch das Gärvermögen bei No. 5 stärker ausgebildet, als bei beiden anderen Organismen.

C. Systematische Stellung der Organismen.

Wenn man die beschriebenen Pilze mit den von rein mykologischen Gesichtspunkten aus bisher aufgestellten Gattungen der Sproßpilze ohne Sporenbildung vergleicht, so lassen sie sich in keine von ihnen ohne weiteres unterbringen. Schon auf den ersten Blick unterscheiden sie sich von *T o - r u l a*- und *M y c o d e r m a*arten, denen vor allem die Fähigkeit, echt geteilte Mycelien zu bilden, abgeht.

G e i g e r gibt für *P s e u d o m o n i l i a* an, daß sie durch dünnes, querwandfreies Fadenmycel charakterisiert wird; ein solches Mycel kommt

bei den beschriebenen Organismen ebenfalls nicht vor. Auch Kahlhautbildung, Zellgröße, Zellform und Riesenkolonien sind von denen der *Pseudomonilia* ganz verschieden. Die Organismen, die außerdem zum Vergleich in Betracht kommen können, sind *Chalara* arten. Man findet in der Literatur nur kleine Arbeiten und Bemerkungen über diese Pilzgruppe. Dieser Gruppe kommt auch die Fähigkeit zu, quergeteilte Mycelien zu treiben, welche sehr leicht in Oidien zerfallen. Cienkowski (25) hat diese Gattung und 2 Varietäten, bezw. Arten ganz kurz behandelt. Über die Sproßfähigkeit der Oidien bemerkt er auf p. 524 folgendes: „Die Erfahrung lehrt, daß ein Myceliumglied unter der Querwand ein seitliches spitzes Sterigma treibt (Tab. II Fig. 40, 41s), dessen Ende allmählich anschwillt und eine Konidie abschnürt.“ Über eine zweite Varietät, bezw. Art. schreibt er auf p. 525: „Sie ist noch deswegen charakteristisch, daß das Geschäft der Konidienabschnürung bloß auf endständige Zeilen übertragen wird, die oft durch ihre gedrängte und aufrechte Stellung an die Penicilliumpinselform erinnern (Tab. II Fig. 47—49)“.

Diese spitzigen und *Penicillium* ähnlichen Sterigma sind bei den beschriebenen Organismen nicht zu beobachten; trotzdem können die letzteren in die Nähe von *Chalara* arten untergebracht werden; sie besitzen Ähnlichkeiten mit ihnen, besonders in der Fähigkeit, geteilte Hyphen regelmäßig in Oidien zerfallen zu lassen. Die letzte Gattung, mit welcher die beschriebenen Organismen zu vergleichen wären, ist *Monilia*. Auch mit dieser sind gewisse Ähnlichkeiten vorhanden. Die Organismen können in die Nähe von *Monilia* gestellt werden, unterscheiden sich aber von dieser viel deutlicher als von *Chalara* arten durch die Form der Verbände, den Inhalt der Zellen, den regelmäßigen Zerfall der geteilten Hyphen in Oidien, die ausgeprägte Form der Oidien, das Fehlen der Zotten an den Riesenkolonien und das Fehlen von dünnen Hyphen.

Wenn man diesen kurzen Vergleich der beschriebenen Organismen mit den bis jetzt bekannten Sproßpilzen ohne Sporenbildung durchführt, so lassen sie sich in die Nähe einerseits von *Chalara*, anderseits von *Monilia* einordnen. Sie können jedoch keiner von beiden direkt eingereiht werden.

Vom rein botanischen Standpunkt aus betrachtet, gehören die beschriebenen Pilze zu den *Fungi imperfecti* (26); III. Ordnung *Hyphomycetes*; I. Familie *Mucedinaceae*; I. Abteilung *Hyalosporae*; II. Unterabteilung *Oosporae*; 11. Gattung *Oospora*.

Sie können weiterhin mit keiner bis jetzt bekannten Art von *Oospora* identifiziert werden, einerseits werden sie sich an *Monilia* arten, anderseits an die bekannten *Oospora* arten anschließen. Am nächsten stehen sie der *Oospora suaveolens* (Lindner).

D. Charakteristika der einzelnen Spezies.

No. 2. *Oospora liquefaciens*.

Die Zellform ist länglich; die sprossenden Konidien sind von 4,88—8,6 μ Länge und 3,66 μ Breite. Die Oidien sind 8,84—14,64 μ lang und 2,5—4,7 μ breit. Die Bildung der Hyphen ist reduziert; die aus den Hyphen durch Zerfall gebildeten Oidien besitzen starke Sproßfähigkeit. Kahlhaut schwach, glatt, weiß, nicht zusammenhaltend. Sehr rasche Verflüssigung der Gelatine, schon nach 3 Tagen. Die Plattenkolonien auf Gelatine schmierig, braun,

zerfallen, wenn die Gelatine verflüssigt ist. Die Riesenkolonien sind auf Gelatine von derselben Form, auf Agar dagegen fest und etwas gewölbt. Es werden sehr gut assimiliert: Apfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure und Milchsäure; Weinsäure dagegen etwas schwächer. Die Grenzwerte der Entwicklung liegen am niedrigsten bei Essigsäure: $\frac{1}{4}$ Proz.; am höchsten bei Zitronensäure: 3 Proz. Bei Alkohol liegt der Grenzwert der Entwicklung sehr hoch: 12 Proz. Optimale Temperatur: 23° — 25° . Gegen hohe Temperaturen ziemlich unempfindlich. Gärvermögen schwach; es werden vergoren: Dextrose und Laevulose schwach, Saccharose mittelstark. Zuckerassimilation: Es werden gut assimiliert: Dextrose, Galaktose, Laevulose und Saccharose.

No. 3. *Oospora cycloidea*.

Die Konidien sind im allgemeinen etwas länglich, sie sind $4,2$ — $10,55 \mu$ lang, $2,79$ — $4,20 \mu$ breit. Die Oidien sind in der Größe variabel; Länge $4,2$ — $10,5 \mu$, Breite $2,5$ — $4,7 \mu$. Kahlhaut ziemlich dick, mit Inseln. Ringbildung wahrnehmbar. Die Kolonien auf Gelatine sind groß, flach, zusammenhaltend, mit ringförmiger Struktur. Verflüssigung der Gelatine nach 5 Tagen. Riesenkolonien flach, auf Gelatine etwas eingesunken; auf Agar schmierig, groß, ohne jede Differenzierung. Es werden folgende Säuren sehr gut assimiliert: Apfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Milchsäure und Weinsäure. Die Grenze der Entwicklung liegt am höchsten bei Citronensäure: 4 Proz.; am niedrigsten bei Essigsäure: $\frac{1}{4}$ Proz. Bei Zusatz von Alkohol liegt die Grenze der Entwicklung bei 10 Proz. Temperaturoptimum: 22° — 24° ; gegen hohe Temperaturen ziemlich empfindlich, bei 65° abgetötet. Gärvermögen schwach; es werden vergoren: Dextrin, Dextrose, Laevulose schwach; Saccharose und Maltose etwas stärker. Zuckerassimilation: Es werden gut assimiliert: Dextrose, Galaktose, Milchzucker und Saccharose.

No. 5. *Oospora radiata*.

Die Konidien sind $6,6$ — $10,5 \mu$ lang, $3,6 \mu$ breit; Oidien sind $2,5$ — $10,98 \mu$ lang und $2,44$ — $2,68 \mu$ breit. Kahlhaut mittelstark, mit deutlichen Inseln. Ring vorhanden. Die Kultur entwickelt sich meist im Innern der Lösung in Form großer Kolonien. Hyphen werden reichlich gebildet; sie zerfallen leicht in Oidien, welche reduzierte Sproßfähigkeit besitzen. In älteren Kulturen kommen Riesenzellen vor. Die Plattenkolonien auf Gelatine sind in der Mitte gewölbt, weiterhin strahlenförmig und schließlich mit einem glatten Ring umgeben. Verflüssigung der Gelatine nach 10—20 Tagen. Riesenkolonien auf Gelatine erhöht, kraterförmig, mit weißer Strahlung; auf Agar schmierig, glatt, schwach erhöht. Es werden gut assimiliert: Apfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure; etwas schwächer Milchsäure; mittelstark Weinsäure. Die Grenze der Entwicklung liegt am höchsten bei Zitronensäure: 4 Proz.; am niedrigsten bei Essigsäure: $\frac{1}{4}$ Proz. Die Grenze der Entwicklung bei Alkoholzusatz liegt niedrig: 6 Proz. Temperaturoptimum 20° — 22° . Gegen hohe Temperaturen empfindlich, schon bei 50° abgetötet. Gärvermögen schwach; es werden schwach vergoren: Dextrin, Galaktose, Laevulose, Maltose; etwas stärker Dextrose; stark Saccharose. Dieser Organismus ist ausgezeichnet durch gute Assimilationsfähigkeit für Zuckerarten, die im Verlaufe der Untersuchung zur Anwendung gelangten; Saccharose wird am stärksten verbraucht.

II. *Oospora (Oidium) lactis* var. *craterica*.

Kaum ein anderer Pilz ist durch solch einfache Entwicklung ausgezeichnet wie *Oospora (Oidium) lactis* und seine Varietäten. Aus einer mehr oder weniger länglich rechteckigen Zelle entstehen durch Keimung lange, verzweigte Hyphen, die wieder in solche länglich rechteckige Zellen — Oidien — zerfallen. Da von diesem Pilz keine andere als diese vegetative Fortpflanzungsform bekannt ist, ist seine Stellung im phylogenetischen System natürlich unsicher. Von Ciencowski sind konidienförmige Auswüchse der Oidien beobachtet worden, die ihn dazu veranlaßten, *Oospora (Oidium) lactis* von *Chalara* abzuleiten. Diese Auswüchse sind von Hansen (27) als abnorme Bildungen infolge von Nahrungsmangel erkannt worden. Der von verschiedenen Seiten behauptete Pleomorphismus von *Oospora (Oidium) lactis* ist durch Untersuchungen von Hansen ebenfalls ins richtige Licht gestellt worden. Infolge seines öfteren Vorkommens, der Leichtigkeit, ihn zu isolieren, und seiner praktischen Bedeutung für die Milchprodukte sind *Oospora (Oidium) lactis* und seine Varietäten öfters Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Eine zusammenfassende, neuere Arbeit, die auch eine umfassende Literaturübersicht bietet, stammt von Schnell (28). Später ist von Krzemecki (29) eine *Oospora (Oidium)* beschrieben worden, die sich durch die starke Fähigkeit, einen esterartigen Geruch hervorzubringen, auszeichnet, und die er infolgedessen als *Oidium suaveolens* bezeichnet hat.

Die von mir isolierte und zu beschreibende *Oospora (Oidium)* ist durch die Form ihrer Kolonien und durch ihre Entwicklung von anderen, bis jetzt bekannten zu unterscheiden. Sie stammt aus den Rohrleitungen einer Brauerei.

A. Morphologie.

Bei dem vorliegenden Pilz entstehen die Hyphen nicht direkt aus Oidien, wie bei dem typischen *Oidium lactis*, sondern es werden längere Zeit hindurch aus Oidien durch Querteilung immer neue Oidien gebildet; diese verlängern sich allmählich, und einzelne von ihnen wachsen zu Hyphen aus, die wieder in Oidien zerfallen. Die letzteren runden sich dann vollständig ab und sind später durch reichlichen, fettartigen Inhalt ausgezeichnet.

a) Zellgröße und Zellinhalt.

Die Zellgröße ist variabel, je nach dem Alter der Kultur, die zur Untersuchung gelangt. In jungen Kulturen herrschen kurze Oidien vor, in älteren dagegen lange Oidien und Hyphen. In älteren Kulturen sind die Oidien meist mit fettartigem Inhalt vollständig angefüllt, die Hyphen besitzen oft Vakuolen. Die Oidien sind im Durchschnitt 7,37 bis 30,69 μ lang; in der Breite sind sie konstant 3,07—3,91 μ ; in älteren Kulturen trifft man oft auch breitere Oidien. Die jungen Oidien sind oft etwas zugespitzt, besitzen einige kleine Vakuolen und wenige Granula. In jungen Oidien und Hyphen läßt sich bei Kulturen in fast jeder Kulturlösung deutlich Glykogen nachweisen. Die Oidien, welche mit Inhalt vollständig erfüllt sind, geben mit 1 Proz. Osmiumsäure die für Fette charakteristische schwarzbraune Färbung. Wenn man solche Oidien in Alkohol, Äther oder

Osmiumsäure überträgt, so kann man unter dem Mikroskop leicht ein Zusammenfließen des Inhaltes beobachten, was ebenfalls für seine fettartige Natur spricht.

b) Entwicklung.

Einzellkultur im Tröpfchen in Bierwürze. Wenn man von einer älteren, abgerundeten, mit fettartigem Inhalt erfüllten Oidie ausgeht, so ist der erste Schritt der Entwicklung die Sprossung; es wird seitlich nach 7—8 Stunden eine Ausstülpung gebildet, die sich etwas verlängert und dann von der Mutterzelle abgeschnürt wird (Fig. 8b—d). Inzwischen bildet sich an derselben Stelle wieder eine neue Ausstülpung, und es wird wieder eine Zelle abgeschnürt, die die charakteristische längliche Form der Oidien annimmt. Diese Sprossung kann gleichzeitig an mehreren Stellen der Mutteroidie vor sich gehen. Der fettartige Inhalt schwindet allmählich; die Mutterzelle bekommt eine stark verdickte Membran und stirbt scheinbar ab. Sie ist aber in der Kolonie der gebildeten Oidien noch längere Zeit zu unterscheiden. Die von der Mutter-



Fig. 8. Entwicklung im hängenden Tröpfchen in Würze. a Ausgangszelle, abgerundete Oidie, b—l aufeinanderfolgende Entwicklungsstadien der jungen Kolonie, m Rand der zwei Tage alten Kolonie vor dem Zerfall der Hyphen in Oidien, n Rand der eine Woche alten Kolonie, o Rand der zwei Wochen alten Kolonie.

zelle abgesproßten Oidien vermehren sich weiter, indem sie deutliche Querwände bilden, an denen ein weiterer Zerfall in 2 neue Zellen erfolgt. Dabei legen sich die beiden Teiloidien meist in einen Winkel zueinander. Die Teilung der Oidien vollzieht sich längere Zeit hindurch; oft wird das ganze Tröpfchen mit Oidien angefüllt, die allmählich größer werden. Manche von diesen großen Oidien wachsen in verzweigte Hyphen aus, die zuerst wenig Querwände und wenige Granula aufweisen (Fig. 8m). Schließlich werden mehr und mehr Querwände gebildet, die einen vollständigen Zerfall in Oidien bedingen. Diese sind zuerst ziemlich lang, mit der Zeit aber zerfallen sie wiederum in kleine Oidien, die sich abrunden und schließlich fettartigen Inhalt bekommen (Fig. 8 o). Dasselbe geschieht mit den langen Hyphen, welche

sich im Tröpfchen befinden; sie zerfallen sukzessive in kleine Oidien, die sich ebenfalls abrunden und Fett speichern.

Die Entwicklung der Einzellkultur in Würzegelatine ist der im Tröpfchen ähnlich; es entsteht auch hier eine Oidienkolonie, welche Hyphen hervorbringt, die schließlich in Oidien zerfallen. Die Bildung der Hyphen kann oft auch in viel stärkerem Maße erfolgen. Der Zerfall der letzteren dagegen ist oft reduziert, und es kommt vor, daß die gebildeten Hyphen überhaupt nicht in Oidien zerfallen; in diesem Falle sind die Hyphen auffallend vakuolenreich.



Fig. 9. Entwicklung der Kolonie in Einzellkultur auf Agar. a gekeimte Oidie, b junges Mycel, c in Oidien zerfallenes Mycel.

Die Entwicklung auf Agar mit Asparagin und Dextrose verläuft etwas abweichend von den beiden oben erwähnten Fällen. Es entsteht hier durch Auswachsen der einzelnen Oidien ein vakuolenreiches Mycel, welches bald in Oidien zerfällt. Der Zerfall vollzieht sich meist an den Verzweigungsstellen. Die Kolonie ist infolge der einseitigen Mycelbildung etwas länglich und bleibt auffallend klein; sie ist bedeutend kleiner als auf der Würzegelatine.

c) Verhalten in verschiedenen Kulturlösungen.

In der Bierwürze erfolgt die erste merkliche Entwicklung nach 2 Tagen als große, glatte, weiße Inseln in der Mitte der Kulturlösung; sie wachsen rasch zu einer Kahmhaut aus, welche schon nach 3 Tagen die ganze Oberfläche überzieht und am Rande des Kölbchens hinauf kriecht. Nach etwa 5 Tagen beginnt auf der glatten Kahmhaut die Bildung der regelmäßigen Faltung; gleichzeitig wird die Kahmhaut bedeutend stärker und wächst von unten her in die Würze hinein. Sie bekommt dort ein bräunliches Aussehen; auf der Oberseite dagegen behält sie längere Zeit ihre weiße Farbe bei. Oft ist das Hineinwachsen der unteren Teile der Kahmhaut so intensiv,

daß die Flüssigkeit vollständig mit Hyphen durchwachsen wird; dadurch entsteht eine schleimige, zähe Masse, die unter dem Mikroskop hauptsächlich aus Hyphen besteht. Dieses Durchwachsen nimmt gewöhnlich längere Zeit, 1—2 Monate, in Anspruch. Am dritten Tage besteht die junge Kahlhaut aus kurzen, an den Enden meist etwas zugespitzten Oidien. Die kurzen Oidien sind in Teilung begriffen; infolgedessen sieht man an ihnen deutliche Querwände. Sie erhalten selten Vakuolen und wenige Granula, welche als einige Pünktchen in der Oidie abgelagert erscheinen. Nach 7 Tagen trifft man lange Oidien und Hyphen, welche nach 10 Tagen wieder in kurze Oidien zu zerfallen beginnen; diese durch Zerfall gebildeten Oidien sind meist mit regelmäßigen, fettartigen Tröpfchen vollgestopft. Manche Zellen weisen in der einen Hälfte eine Kontraktion des Inhaltes auf, die andere wird dann von einer Vakuole eingenommen.

Im Hefewasser ist die Entwicklung merklich verzögert; die zuerst entstandenen Inseln vereinigen sich erst nach 5—7 Tagen zu einer Kahlhaut, welche am Anfang fein und glatt ist, später dick wird und in die Flüssigkeit herunterhängende Flocken entwickelt; sie besitzt aber gewöhnlich keine äußere Differenzierung.

Hefewasser mit Zusatz von verschiedenen Zuckerarten sagt diesem Pilz sehr zu; besonders gut war die Entwicklung in den Lösungen mit Saccharose und Dextrose, in welchen dieser Pilz die ganze Kulturflüssigkeit durchwachsen hat und eine zusammenhängende, zähe Masse bildete, die hauptsächlich aus Hyphen bestand. In älteren



Fig. 10. Abnorme Oidienformen in älteren Kutulren in Hefewasser mit verschiedenen Zuckerarten.

Hefewasserkulturen mit verschiedenen Zuckerarten findet man Oidienformen, die durch ihre Größe und Gestalt sich auszeichnen; viele von ihnen sind in der Mitte kugelförmig angeschwollen, manche an den Enden gekrümmt. Sie sind auffallend groß und vollständig mit fettartigen Tröpfchen erfüllt, die oft zusammenfließen und den ganzen Raum der Zelle ausfüllen (Fig. 10). Es ist hier noch leichter als bei normalen Oidien ein Zusammenfließen des Inhaltes zu beweisen, indem man die Oidien in Alkohol, Äther und so weiter überträgt. In frische Nährlösung gebracht, haben diese abnormalen Formen von Oidien die Fähigkeit, neue Zellen hervorzubringen, genau so, wie es bei normalen Formen geschieht.

In den künstlichen Lösungen mit Asparagin und Pepton war die Entwicklung etwas gehemmt.

In der künstlichen Lösung mit Ammoniumsulfat bildete sich die Kahlhaut erst nach 15 Tagen; sie war ganz schwach und glatt. Mikroskopisch bestand sie aus kurzen Oidien mit fettartigem Inhalt.

In Vollmilch war die Entwicklung sehr gut. Nach 2 Monaten war die Milch vollständig mit dem Pilz durchwachsen. Die Kultur blieb vollständig geruchlos; es war kein käseartiger Geruch wahrnehmbar.

d) Verhalten auf festen Nährböden.

α) Plattenkulturen.

Auf der Petrischale in Würzgelee vollzieht sich die Entwicklung zuerst ziemlich langsam; nach 3 Tagen sind die Kolonien ganz klein und fest, nach 4 Tagen erhöhen sie sich etwas, sind glatt, matt, in der Mitte sind manche

von ihnen nadelstichförmig vertieft, am Rande besitzen sie feine Strahlung (Photographie VIII). Nach 12 Tagen ist die Kolonie von außen her etwas gewunden und in der Mitte etwas eingesunken; die mittlere Wölbung ist bräunlich, die umgebenden Partien sind weiß, mit Luftmycel bedeckt. Am Rande bekommt die Kolonie einen bräunlichen Ring, von welchem noch eine feine Strahlung, die nur wenig Raum einnimmt, ausgeht. Verflüssigung der Gelatine tritt erst nach längerer Zeit, 1—2 Monate, auf. Mikroskopisch besteht der braune Ring hauptsächlich aus Hyphen, der weiße Teil der Kolonie aus Oidien; die gewundene mittlere Partie aus Hyphen und Oidien.

Auf Molkegelatine ist die Entwicklung gut; die Kolonien sind erhöht, mit feiner Strahlung, die vom festen Rand der Kolonie ausgeht. Die zuerst glatte Kolonie erhält nach einiger Zeit weiße Zotten (Luftmycel); bemerkenswert ist, daß hier die Verflüssigung der Gelatine schon nach 10 Tagen, und zwar vollständig eintritt.

Auf Gelatine, hergestellt mit der künstlichen Lösung mit Ammoniumsulfat und Dextrose, ist die Entwicklung verhältnismäßig gut; es tritt hier um die feste Kolonie eine Strahlung auf, die oft größer ist, als die feste, mittlere Partie.

Auf Agar mit Asparagin und Dextrose ist die Entwicklung gut; es entstehen Kolonien, welche in der Mitte fest und erhöht sind, und eine feine verzweigte Strahlung besitzen.

β) Riesenkolonien.

Riesenkolonien sind nach 16 Tagen photographiert worden. Die Riesenkolonie auf Würzegeleatine bildet einen Krater, dessen Rand sich ziemlich hoch über den Nährboden erhebt (Photographie IX). Der Rand ist dick und verläuft nicht kontinuierlich, sondern ist durch einige Einsenkungen unterbrochen. Die Zahl der Einsenkungen wird größer, je mehr der Rand der kraterförmigen Vertiefung sich nähert. An der Berührungsstelle mit der Gelatine ist der Rand ganz fein gezackt. In der ersten Zeit der Entwicklung ist die kraterförmige Vertiefung im Innern mit weißen Falten erfüllt, welche schon nach 10 Tagen schmierig zu werden beginnen; sie verlieren ihre weiße Farbe und gehen in Braun über. Parallel mit dem Braunwerden der mittleren Wölbung geht eine weitere Vertiefung des Kraters und eine damit verbundene schwache Verflüssigung der Gelatine, welche unmittelbar unter dem Krater sich befindet. Auf horizontalem Schnitte der Kolonie sieht man, daß der Rand des Kraters fest und über der Gelatine erhaben ist. Die mittlere braune Vertiefung dagegen ist in den Nährboden etwas eingesunken. Der Rand des Kraters besteht mikroskopisch aus langen und kurzen Oidien, welche reichlich Vakuolen und verhältnismäßig wenige Granula enthalten. Die schmierige Masse der mittleren Vertiefung besteht hauptsächlich aus vakuolenreichen Hyphen; nicht selten trifft man auch lange und kurze Oidien mit vielen Granulis.

Die Riesenkolonie auf Agar mit Asparagin und Dextrose entwickelt sich in der ersten Zeit langsam. Das Wachstum beschränkt sich auf die kleine mittlere Zone und erfolgt hauptsächlich in die Höhe; dadurch entsteht eine knopfartige Erhöhung. Um die letztere herum bildet sich ein flacher Ring, der am Rande ganz wenig gezackt ist; von ihm geht eine feine Strahlung aus, die sich weit auf dem Agar ausbreitet. Die Strahlung ist mit bloßem Auge kaum zu sehen; mit der Lupe konstatiert man an ihr eine Verästelung der Hyphen. Die ganze Kolonie ist nicht in den Nährboden eingesunken. Die

knopfartige Erhöhung ist durch die derbe Beschaffenheit ihrer Oberfläche ausgezeichnet; unter dieser derben Haut befindet sich eine schmierige Masse, welche aus Oidien mit Vakuolen und Granulis besteht. Sonst findet man in der Kolonie hauptsächlich Oidien, die besonders in der feinen Strahlung klein und regelmäßig gebaut sind. Eine Photographie dieser Kolonie herzustellen, war aus technischen Gründen nicht möglich, da die mittlere knopfartige Partie zu stark erhöht war.

B. Physiologie.

Die physiologischen Untersuchungen sind in derselben Reihenfolge, wie bei den oben beschriebenen *Oospora*arten durchgeführt worden. Die vorliegende *Oospora* (*Oidium*) ist enzymarm. Die Anwesenheit von tryptischen Enzymen läßt sich mit Sicherheit nachweisen, wenn auch erst nach längerer Zeit eine Verflüssigung der Gelatine aufgetreten ist. Dabei ist die Produktion der tryptischen Enzyme von der gebotenen Nahrung abhängig. In der Molkegelatine z. B. konnte die Verflüssigung schon nach 10 Tagen beobachtet werden; in der Würzelgelatine dauerte es etwas länger, bis sie nachweisbar war; dabei war die Gelatine entschieden weniger verflüssigt, als es durch das Wachstum der *Oospora* (*Oidium*) auf Molkegelatine der Fall war. Katalase war auch durch deutliches Aufsteigen von Sauerstoffbläschen aus dem Wasserstoffsuperoxyd nachweisbar. Lipase, Diastase, Gelase fehlten vollständig.

In seinem Verhalten gegen organische Säuren zeigt diese *Oospora* (*Oidium*) auffallende Übereinstimmung mit den beschriebenen *Oospora*arten. Auch hier werden gut assimiliert: Milchsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure und Apfelsäure. Der Bedarf an Weinsäure ist gering. Essigsäure wird nicht, Oxalsäure und Ameisensäure beinahe nicht angegriffen.

Säuren	Verbrauchte cem 1/10 n NaOH pro 10 cem Lösung	Verbrauchte cem 1/10 n NaOH nach 28 Tagen	Assimilierte Mengen der Säuren
Ameisensäure	2,1	1,9	0,2
Apfelsäure	4,3	0	4,3
Bernsteinsäure	3,85	0	3,85
Zitronensäure	3,55	0	3,55
Essigsäure	3,3	3,3	0
Milchsäure	2,0	0	2,0
Oxalsäure	4,0	3,6	0,4
Weinsäure	3,65	2,5	1,15

Entsprechend der Säureassimilation, waren die Grenzwerte der Entwicklung bei Zusatz von größeren Säuremengen folgende: Ameisensäure $\frac{1}{2}$ Proz., Apfelsäure 2 Proz., Bernsteinsäure 1 Proz., Zitronensäure $1\frac{1}{2}$ Proz., Essigsäure $\frac{1}{4}$ Proz., Milchsäure 1 Proz., Oxalsäure $\frac{1}{2}$ Proz., Weinsäure 1 Proz. Gegen organische Säuren ist dieser Pilz verhältnismäßig empfindlich. Die Resultate über Bildung und eventuell Verbrauch der gebildeten Säuren aus verschiedenen Zuckerarten sind in cem $\frac{1}{10}$ n NaOH pro 10 cem Kulturlösung ausgedrückt, folgende:

Zuckerarten	Nach 2 Wochen	Nach 4 Wochen	Nach 8 Wochen	Nach 10 Wochen
Dextrin	0,3	0,2	0	0
Dextrose	0,7	0,3	0	0
Galaktose	0,5	0,2	0	0
Laevulose	0,3	0,2	0,1	0
Milchzucker	0,3	0,3	0,2	0
Maltose	0,6	0,8	0	0
Raffinose	0,55	0,2	0	0
Saccharose	0,3	0,5	0,5	0,5

Die zuerst in sehr kleinen Mengen gebildeten Säuren werden im allgemeinen nach 8 Wochen vollständig verbraucht. Nur bei Saccharose bleibt die Acidität bis zum Schluß der Versuche erhalten.

Da *Oospora* (*Oidium*) *lactis* und ihre Varietäten auf Milchprodukten vorkommen, legt man gewöhnlich größeren Wert auf die Veränderung der Reaktion der Milch infolge der Wirkung dieses Organismus. Schnell zeigte, daß in der Milch bei Anwesenheit von *Oospora* (*Oidium*) *lactis* und ihren Varietäten zuerst eine Säurezunahme stattfindet; dann aber wird die gebildete Säure vollständig verbraucht. Diese Tatsache wurde auch bei dem vorliegenden Organismus bestätigt. Es sind folgende Mengen der $\frac{1}{10}$ n NaOH in ccm ausgedrückt, pro 10 ccm Milch gerechnet, verbraucht worden: Nach 2 Wochen 2,0 ccm, nach 4 Wochen 3,0 ccm, nach 8 Wochen reagiert die Milch schon neutral.

Bei diesem Pilz liegt das Temperaturoptimum niedrig, nämlich bei 23° — 25°; gegen hohe Temperaturen ist er sehr empfindlich. Nach 5 Minuten langem Erwärmen bei verschiedenen Temperaturen war nach den folgenden Zeiträumen die erste Entwicklung konstatierbar: Bei 40° nach 2 Tagen, bei 45° nach 3 Tagen, bei 50° nach 6 Tagen nur schwache Entwicklung; bei 55° war auch nach längerer Zeit keine Entwicklung mehr nachweisbar.

Eine Assimilation von atmosphärischem N hat nicht stattgefunden; diese Tatsache stimmt mit den Untersuchungen von Lindner und Nann überein (30).

Aus verschiedenen N-Quellen waren folgende Mengen von N, in mg pro 10 ccm Kulturlösung ausgedrückt, assimiliert. Die beste N-Quelle ist Asparagin. Von Ammoniumsulfat sind nur Spuren verbraucht worden; dementsprechend war das Wachstum in der Lösung mit Ammoniumsulfat sehr schwach.

N-Quellen	mg N pro 10 ccm Lösung vor dem Versuch	mg N pro 10 ccm Lösung nach 28 Tagen	Assimilierte Mengen N
Ammoniumsulfat . . .	5,32	5,04	0,28
Asparagin	4,62	0,98	3,64
Pepton	3,36	1,68	1,68

Die N-Assimilation wird auch durch verschiedene Zuckerarten beeinflusst. Als N-Quelle diente hier der im Hefewasser enthaltene N. Die Resultate sind in mg pro 10 ccm Kulturlösung ausgedrückt, und sind folgende:

Zuckerarten	mg N pro 10 ccm Lösung vor dem Versuch	mg N pro 10 ccm Lösung nach 4 Wochen	Assimilierte Mengen N
Dextrin	2,24	1,26	0,98
Dextrose	2,38	1,40	0,98
Galaktose	3,36	2,80	0,56
Laevulose	2,52	2,24	0,28
Kaltose	3,50	2,10	1,40
Milchzucker	3,64	1,82	1,82
Saccharose	3,64	2,24	1,40
Bierwürze	7,14	5,20	1,94

Der stärkste Verbrauch an N findet in Bierwürze statt, der schwächste dagegen bei Anwesenheit von Laevulose. Verhältnismäßig starke N-Assimilation vollzieht sich in Kulturlösungen, die Milchzucker enthalten.

Gegen Zusatz von Alkohol ist die *Oospora* (*Oidium*) ziemlich empfindlich; ihre Grenze der Entwicklung in alkoholhaltigem Hefewasser liegt bei 6 Volum Proz. Alkohol. Bei Zusatz von 2 Proz. Alkohol fand die erste merkbliche Entwicklung nach 2 Tagen statt, bei 3 Proz. Alkohol nach 3 Tagen, bei 5 Proz. nach 18 Tagen. Nach Alkohol, der aus den verschiedenen Zuckerarten sich hätte bilden können, ist qualitativ und quantitativ vergebens gesucht worden. Nur in der dextrosehaltigen Lösung waren nach 8 Wochen 0,26 Proz. Alkohol wahrnehmbar; nach 10 Wochen waren aber nur noch Spuren davon vorhanden. In der saccharosehaltigen Lösung waren nach 4, 8 und 10 Wochen auch Spuren von Alkohol zu konstatieren. Infolgedessen ist man berechtigt, zu behaupten, daß bei dem vorliegenden Organismus keine alkoholische Gärung stattfindet.

Die Assimilation von verschiedenen Zuckerarten verlief in der folgenden Weise; die Resultate sind in Proz. des Zuckers ausgedrückt:

Zuckerarten	% Zucker vor dem Versuch	Nach 2 Wochen	Nach 4 Wochen	Nach 8 Wochen	Nach 10 Wochen	Assimilierte Mengen von Zucker
Dextrin	3,72	3,34	3,26	3,15	2,91	0,81
Dextrose	3,74	3,25	3,19	3,02	2,93	0,81
Galaktose	3,72	3,44	3,33	3,23	3,16	0,56
Laevulose	4,35	4,00	3,97	3,82	3,74	0,61
Maltose	3,34	2,92	2,84	2,65	2,45	0,89
Milchzucker	3,84	3,28	3,15	2,94	2,86	0,98
Saccharose	4,34	4,26	4,24	4,12	4,06	0,28
Bierwürze	6,51	6,22	6,06	5,82	5,66	0,85

Die Abnahme des Zuckergehaltes der Lösung erfolgt ganz allmählich. Der Zuckerverbrauch ist aber, entsprechend der Abwesenheit einer Alkoholgärung, gering; er übersteigt in 10 Wochen nirgends 1 Proz. Am schwächsten wird Saccharose angegriffen, wovon nur 0,28 Proz. verbraucht werden. Bei Milchzucker ist mit 0,98 Proz. die stärkste Assimilation nachweisbar.

C. Systematisches.

Der für *Oidium lactis* und seine Varietäten von botanisch-systematischer Seite vorgeschlagene Name — *Oospora* — im Gegensatz zu den meist als Pflanzenparasiten auftretenden eigentlichen *Oidium*arten

ist bisher von den technischen Mykologen nicht angenommen, sondern an seiner Stelle der alte Name *Oidium* beibehalten worden. La far (31) sucht aber, die bisherigen Gegensätze zu unterdrücken, indem er die technischen Mykologen auf Unterschiede der beiden Gattungen hinweist und bezüglich *Oidium* sagt: „Unter *Oidium* dagegen versteht man parasitische Pilze mit Haustorien, die an kurzen Trägern Konidienketten tragen.“ Trotzdem aber wird später bei La far (32) wieder dafür gesprochen, die alte Bezeichnung *Oidium* beizubehalten. Bis zu einer Einigung wird es also notwendig sein, die dem bisherigen *Oidium lactis* nahe stehenden Arten mit *Oospora* (*Oidium*) zu bezeichnen.

Die beschriebene *Oospora* (*Oidium*) läßt sich mit keiner bis jetzt bekannten Art identifizieren. Es wird daher vorgeschlagen, sie als *Oospora* (*Oidium*) *lactis* var. *craterica* zu bezeichnen.

D. Charakteristik.

Oospora (*Oidium*) *lactis* var. *craterica*. Die erste Teilung geschieht durch Sprossung. Die durch Sprossung entstandenen Zellen besitzen charakteristische Oidiengestalt. Die weitere Vermehrung erfolgt durch Querteilung dieser Oidien. Erst nach längerer Zeit entstehen verzweigte Hyphen, die in Oidien zerfallen. Die Oidien sind im Durchschnitt 7,37—30,69 μ lang, 3,07—3,91 μ breit und oft vollständig mit fettartigem Inhalt erfüllt. Die Kolonie auf Würzgelatine ist gewunden und mit Luftmycel versehen. Der Zeitpunkt der Verflüssigung der Gelatine tritt, je nach dem angewandten Nährboden, verschieden ein; am frühesten nach 10 Tagen, manchmal jedoch bedeutend später, nämlich nach 1—2 Monaten. Die Riesenkolonie auf Gelatine ist kraterförmig, mit festem, mit Einsenkungen versehenen Ring. Auf Agar ist die Riesenkolonie fest, knopfartig erhöht, mit feiner, großer Strahlung am Rande. Von organischen Säuren werden sehr gut assimiliert: Apfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure und Milchsäure. Die Entwicklungsgrenze bei Zusatz von Säuren liegt am höchsten bei Apfelsäure: 2 Proz., am niedrigsten bei Essigsäure $\frac{1}{4}$ Proz. In Milch erfolgt zuerst eine Säurebildung, dann aber wird die gebildete Säure vollständig verbraucht. Das Temperaturoptimum liegt bei 23°—25°. Gegen Einwirkung hoher Temperaturen ist die *Oospora* sehr empfindlich; sie wird schon bei 55° abgetötet. Keine Alkoholgärung. Schwache Zuckerassimilation; am stärksten wird Milchzucker, am schwächsten Saccharose assimiliert.

Die untersuchten Organismen sind vom Verf. im Laboratorium von Herrn Prof. Dr. H. Sch n e g g (Weihenstephan-Freising) isoliert worden, ihm bin ich in zweifacher Hinsicht zu aufrichtigem Dank verpflichtet. Einerseits verdanke ich ihm die erste Einführung in das mykologische Studium, und es war mir vergönnt, an seiner Seite längere Zeit hindurch in dieses Gebiet tiefer einzudringen. Andererseits hat er mir auch in der liebenswürdigsten und uneigennützigsten Weise spezielle Ratschläge in bezug auf die vorliegenden Untersuchungen erteilt. Ich ergreife daher mit Freuden diese Gelegenheit, Herrn Prof. Dr. H. Sch n e g g meiner steten Dankbarkeit zu versichern.

Die vorliegende Arbeit selbst wurde vom Wintersemester 1913/14 bis Sommersemester 1915 im Institut für allgemeine Botanik der Universität

Zürich ausgeführt. Dem Leiter dieses Instituts, meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Dr. A. Ernst, bin ich für das liebenswürdige Entgegenkommen, das er bei der Durchführung dieser Arbeit gegen mich zeigte, zu größtem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis.

1. Will, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 10. 1903. p. 689.
2. —, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. 1907. p. 1, 3, 75, 137, 331, 428, 604 u. 693.
3. —, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 386 u. 459.
4. —, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 34. 1912. p. 1.
5. Schimon, Dissert. München 1911.
6. Will, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. p. 1.
7. Geiger, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. 1910. p. 97.
8. Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. 4, p. 2.
9. Guilliermond, Rev. gén. bot. T. 15. 1903. p. 49.
10. Heinze, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 12. 1904. p. 63.
11. Hutchinson, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. 1907. p. 65, 129, 321, 417, 593.
12. Gran, Ref. Bot. Centralbl. Bd. 90. 1902. p. 264.
13. Jorns, Arch. f. Hyg. Bd. 67. 1908. p. 134.
14. Pfeiffer, Chem.-Zeitg. Bd. 15. 1891. p. 1108; Bd. 16. 1896. p. 1496 u. 1596.
15. Lunge, Chem.-techn. Untersuchungsmethoden. Bd. 2. p. 386.
16. Frank, Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch. 1889. p. 7, 34.
17. Stahel, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 49. 1911. p. 579.
18. Ternetz, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 44. 1907. p. 353.
19. Brenner, Widar, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 40. 1914. p. 555.
20. Will, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. p. 22.
21. —, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 388.
22. Lunge, Chem.-techn. Untersuchungsmethoden. Bd. 3.
23. König, Chemie der menschlichen und tierischen Nahrungs- und Genußmittel. Bd. 3. T. 1.
24. Steiger, Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 28. p. 444.
25. Cienkowski, Bull. de l'acad. imp. d. sc. d. St. Pétersbourg. T. 17. 1872. p. 512.
26. Rabenhorst, Kryptogamenflora. Abt. VIII. Bd. 1. Leipzig 1904.
27. Hansen, Abh. üb. Gärungsorganism. Jena 1911. p. 93.
28. Schnell, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912. p. 1.
29. Krzemecki, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 38. 1913. p. 577.
30. Lindner u. Naumann, Wochenschr. f. Brauer. Bd. 30. p. 589.
31. Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. 1. p. 216.
32. —, Handb. d. techn. Mykol. Bd. 4. p. 341, 342.

Zeichnungen.

Alle Textzeichnungen sind mit Zeichenokular Leitz angefertigt. Objektiv 7 Leitz, Vergrößerung 400.

Photographien.

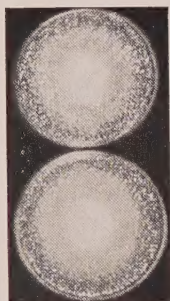
Die der Arbeit beigefügten Photographien sind vom Präparator am Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich, Herrn K. Frank, angefertigt worden. Für die sorgfältige Ausführung derselben bin ich Herrn K. Frank zu bestem Dank verpflichtet.

Alle Photographien haben natürliche Größe.

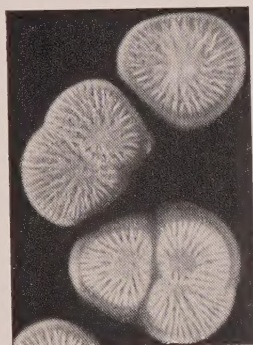
- Phot. I. No. 2, 3 Tage alte Kolonie auf der Petrischale auf Würzegelatine.
 - Phot. II. No. 3, 12 Tage alte Kolonie auf der Petrischale auf Würzegelatine.
 - Phot. III. No. 5, 12 Tage alte Kolonie auf der Petrischale auf Würzegelatine.
 - Phot. IV. No. 2, Riesenkolonie auf Agar.
 - Phot. V. No. 3, Riesenkolonie auf Würzegelatine.
 - Phot. VI. No. 3, Riesenkolonie auf Agar.
 - Phot. VII. No. 5, Riesenkolonie auf Würzegelatine.
 - Phot. VIII. *Oospora (Oidium) lactis* var. *craterica*, 12 Tage alte Kolonie auf der Petrischale auf Würzegelatine.
 - Phot. IX. Derselbe Organismus, Riesenkolonie auf Würzegelatine.
-



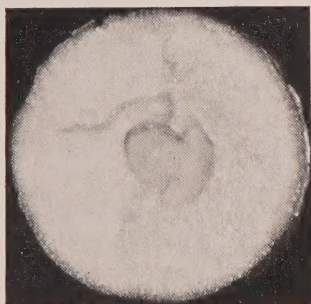
Phot. I.



Phot. II.



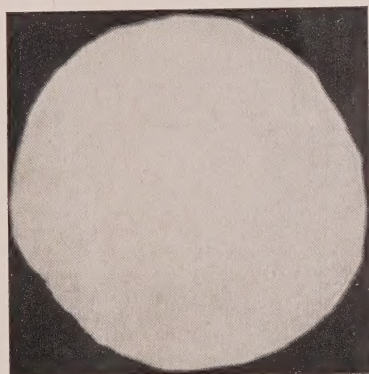
Phot. III.



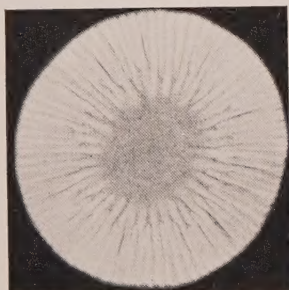
Phot. IV.



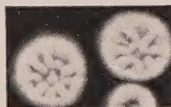
Phot. V.



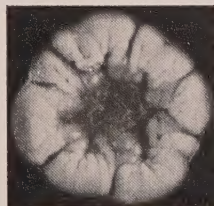
Phot. VI.



Phot. VII.



Phot. VIII.



Phot. IX.

Fürstlich priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff)
Rudolstadt.
